

PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : <p style="text-align: center;">C07H 19/02</p>	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/18634 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. Juni 1996 (20.06.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/04976 (22) Internationales Anmeldedatum: 15. December 1995 (15.12.95) (30) Prioritätsdaten: P 44 44 996.8 16. December 1994 (16.12.94) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: PFLEIDERER, Wolfgang [DE/DE]; Lindauer Strasse 47, D-78464 Konstanz (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GIEGRICH, Heiner [DE/DE]; Ruppenstrasse 15, D-78464 Konstanz (DE). (74) Anwälte: HANSEN, Bernd usw.; Hoffmann, Eitle & Partner, Arabellastrasse 4, D-81925 München (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, CA, CZ, FI, HU, JP, KR, MX, NO, PL, SK, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>	
(54) Title: NUCLEOSIDE DERIVATIVES WITH PHOTOLABILE PROTECTIVE GROUPS (54) Bezeichnung: NUCLEOSID-DERIVATE MIT PHOTOLABILEN SCHUTZGRUPPEN		
<div style="text-align: right; margin-top: -20px;">(I)</div>		
(57) Abstract <p>The invention concerns nucleoside derivatives with photolabile protective groups of general formula (I), in which R¹ is H, NO₂, CN, OCH₃, halogen or alkyl or alkoxyalkyl with 1 to 4 carbon atoms; R² is H, OCH₃; R³ is H, F, Cl, Br, NO₂; R⁴ is H, halogen, OCH₃ or an alkyl group with 1 to 4 carbon atoms; R⁵ is H or a conventional functional protective group for the oxygen atom, which group is suitable for preparing oligonucleotides; R⁶ is H, OH, halogen or XR⁸, wherein X is O or S and R⁸ is a protective group conventional in nucleotide chemistry; B is adenine, cytosine, guanine, thymine, uracil, 2,6-diaminopurine-9-yl, hypoxanthine-9-yl, 5-methylcytosine-1-yl, 5-amino-4-imidazole carboxylic acid amide-1-yl or 5-amino-4-imidazole carboxylic acid amide-3-yl, wherein, if B is adenine, cytosine or guanine, the primary amino function optionally comprises a permanent protective group. These derivatives can be used for the light-controlled synthesis of oligonucleotides on a DNA chip.</p>		

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Nucleosid-Derivate mit photolabilen Schutzgruppen der allgemeinen Formel (I) in der $R^1 = H, NO_2, CN, OCH_3$, Halogen oder Alkyl oder Alkoxyalkyl mit 1 bis 4 C-Atomen; $R^2 = H, OCH_3$; $R^3 = H, F, Cl, Br, NO_2$; $R^4 = H$, Halogen, OCH_3 oder ein Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen; $R^5 = H$ oder eine übliche funktionelle Schutzgruppe für das Sauerstoffatom, die sich für die Herstellung von Oligonucleotiden eignet; $R^6 = H, OH$, Halogen oder XR^8 , wobei $X = O$ oder S und R^8 eine in der Nucleotidchemie übliche Schutzgruppe darstellt; $B = \text{Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin, Uracil, 2,6-Diaminopurin-9-yl, Hypoxanthin-9-yl, 5-Methylcytosin-1-yl, 5-Amino-4-imidazolcarbonsäureamid-1-yl oder 5-Amino-4-imidazolcarbonsäureamid-3-yl}$, wobei im Falle von $B = \text{Adenin, Cytosin oder Guanin}$ die primäre Aminofunktion ggf. eine permanente Schutzgruppe aufweist. Diese Derivate können für die lichtgesteuerte Synthese von Oligonucleotiden auf einem DNA-Chip verwendet werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Nucleosid-Derivate mit photolabilen Schutzgruppen

Beschreibung

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Nucleosid-Derivate mit photolabilen Schutzgruppen und Verfahren zu deren Herstellung.

Photolabile Schutzgruppen für die Hydroxy- und Phosphatfunktionen in Nucleosiden bzw. Nucleotiden sind von besonderem Interesse, da sie bspw. für lichtgesteuerte Parallel-Synthesen von Oligonucleotiden auf einem festen Träger geeignet sind (vgl. S.P.A. Fodor et al. Science 1991, 251, S.767ff). Mit ihrer Hilfe können sogenannte DNA-Chips (d.h. Trägerplättchen, auf deren Oberfläche viele verschiedene Oligonucleotide angeordnet sind) hergestellt werden, die wiederum in der Molekularbiologie für eine schnelle DNA-Sequenz-Analyse benötigt werden.

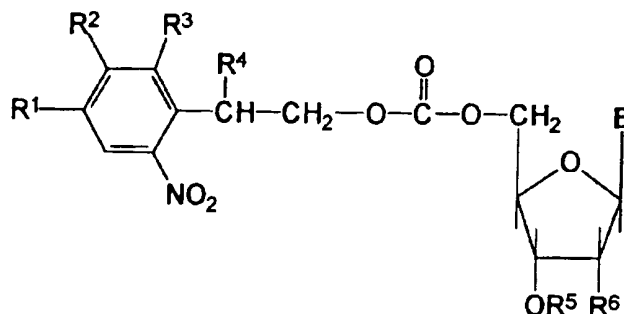
Entsprechend dem Stand der Technik wurden bisher als photolabile Schutzgruppen in der Nucleosid- bzw. Nucleotidchemie vor allem die o-Nitrobenzyl-Gruppe und ihre Derivate eingesetzt (vgl. V.N.R. Pillai, Org. Photochem. 1987, 9, S.225ff bzw. J.W. Walker et al., J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, S.7170ff). Als besonders nachteilig bei diesen Schutzgruppen hat sich die langsame und zum Teil nur unvollständige Entschützung der entsprechenden Nucleosid- bzw. Nucleotid-Derivate erwiesen. Außerdem entstehen bei der Abspaltung der o-Nitrobenzyl-Verbindungen z.T. unerwünschte Nebenprodukte in Form von toxischen Nitrosophenylverbindungen.

Als weitere photolabile Schutzgruppe für Nucleoside wurde entsprechend dem Artikel von W. Pfeleiderer et al. in "Biophosphates and Their Analogues - Synthesis, Structure, Metabolism and Activity", Elsevier Science Publishers B.V. (Amsterdam) 1987, S.133ff die 2-(o-Nitrophenyl)ethylgruppe empfohlen, die jedoch ausschließlich als Schutzgruppe im Basenteil, insbesondere in O⁶-Stellung des Guanosins, eingeführt wird. In derselben Publikation werden auch die p-Nitrophenylethoxycarbonyl (NPEOC) - und die 2,4-Dinitrophenylethoxycarbonyl (DNPEOC) - Gruppen sowohl als Schutzgruppen für die Aminofunktion als auch für die Hydroxylfunktionen im Zuckerteil beschrieben, doch erfolgt die Abspaltung dieser Gruppen ausschließlich durch basenkatalysierte β -Eliminierung.

Der vorliegenden Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, Nucleosid-Derivate mit photolabilen Schutzgruppen für die 5'-OH-Funktion im Zuckerteil zu entwickeln, welche die genannten Nachteile entsprechend dem Stand der Technik nicht aufweisen, sondern sich vergleichsweise schnell, quantitativ und ohne Bildung unerwünschter Nebenprodukte entschützen lassen.

Diese Aufgabe wurde erfindungsgemäß durch Nucleosid-Derivate der allgemeinen Formel (I) entsprechend Anspruch 1 gelöst. Es hat sich nämlich überraschenderweise gezeigt, daß sich die erfindungsgemäßen Schutzgruppen wesentlich schneller und vollständiger abspalten lassen als z.B. die o-Nitrobenzylgruppen. Außerdem konnten bei der Entschützung bisher keine unerwünschten Nebenprodukte festgestellt werden, was ebenfalls nicht vorhersehbar war.

Die erfindungsgemäßen Nucleosid-Derivate weisen folgende allgemeine Formel (I) auf:



wobei die Reste R¹, R² und R³ am Phenylring folgende Bedeutung haben können:

R¹ = H, NO₂, CN, OCH₃, Halogen oder Alkyl oder Alkoxyalkyl mit 1 bis 4 C-Atomen

R² = H, OCH₃

R³ = H, F, Cl, Br, NO₂

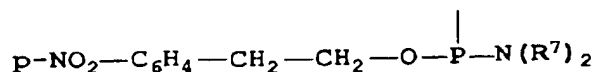
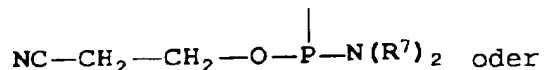
Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform bedeutet R³ = H, falls R² = OCH₃ ist.

Der Rest R⁴, der am C₂-Atom der o-Nitrophenylethyl-Gruppierung sitzt, kann entweder H, Halogen, OCH₃ oder ein Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen sein. Der Alkylrest kann hierbei linear oder verzweigt, substituiert (insbesondere mit einem oder mehreren Halogenatomen) oder unsubstituiert sowie gesättigt oder ungesättigt sein; das gleiche gilt auch für die Alkyl- und Alkoxyalkylreste bei R¹. Vorzugsweise stellt R⁴ einen Methylrest dar. Im Falle von R⁴ ≠ H sind die Substituenten R¹, R² und R³ am Phenylring vorzugsweise Wasserstoffreste. Außerdem stellt im Falle von R² = OCH₃ R³ insbesondere einen Wasserstoffrest dar.

Halogen bedeutet in dieser Anmeldung durchwegs F, Cl, Br, I und vorzugsweise F, Cl oder Br.

Der Nucleosidteil der erfindungsgemäßen Verbindungen besteht aus den üblichen D-Ribofuranose- bzw. 2'-Desoxyribofuranose-Einheiten sowie den Pyrimidin- (B = Cytosin, Thymin, Uracil) bzw. Purinbasen (B = Adenin, Guanin). Als Basen können auch 2,6-Diaminopurin-9-yl-, Hypoxanthin-9-yl-, 5-Methylcytosin-1-yl-, 5-Amino-4-imidazolcarbonsäureamid-1-yl- oder 5-Amino-4-imidazolcarbonsäureamid-3-yl-Reste eingesetzt werden.

Die OH-Gruppe(n) im Ribofuranosid- bzw. 2'-Desoxyribofuranose-Teil können je nach Bedarf frei oder geschützt sein. Zum Schutz der 3'-Stellung haben sich hierbei die bekannten Phosphitamid-Gruppen bewährt, wie z.B.

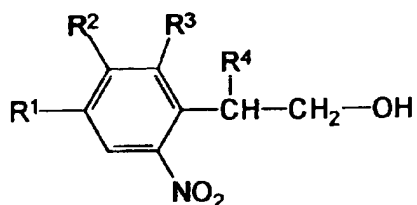


wobei die R^7 -Gruppen gleich oder verschieden sein können und lineare oder verzweigte Alkylreste mit 1 bis 4 C-Atomen bedeuten. Vorzugsweise sind sie Ethyl- oder Isopropylreste.

In der 2'-Stellung des Ribofuranosid-Teiles (Position R^6) kann neben einem Wasserstoff- oder Halogenatom (insbesondere F, Cl, Br) eine freie oder geschützte OH-Gruppe vorliegen, wobei eine beliebige in der Nucleotidchemie übliche Schutzgruppe (R^8) verwendet werden kann. Insbesondere kann auf die üblichen Alkyl-, Alkenyl-, Acetal- oder Silylether-Schutzgruppen für Sauerstoffatome ($\text{X}=\text{O}$) zurückgegriffen werden. R^6 kann auch eine S-Alkylgruppe darstellen ($\text{X}=\text{S}$, $\text{R}^8=\text{Alkyl}$). Bevorzugte Beispiele für O-Alkyl-Schutzgruppen sind O-Methyl- oder O-Ethylreste, für O-Alkenyl-Schutzgruppen O-Allylreste, für O-Acetal-Schutzgruppen O-Tetrahydropyranyl- bzw. O-Methoxytetrahydropyranyl-Reste sowie für O-Silylether-Schutzgruppen O-t-Butyldimethylsilyl-Reste.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform können die Pyrimidin- bzw. Purinbasen mit primären Aminofunktionen (z.B. Adenin, Cytosin und Guanin) noch permanente Schutzgruppen vorzugsweise auf Carbonylbasis aufweisen. Bevorzugt sind hierbei vor allem Phenoxyacetyl- oder Dimethylformamidino-Reste, die für alle drei genannten Basen in Frage kommen. Daneben gibt es noch spezielle Schutzgruppen, die nur bei bestimmten Basen eingeführt werden. Dies sind bspw. im Falle von Adenin Benzoyl- oder p-Nitrophenylethoxycarbonyl (p-NPEOC)-Reste. Für Guanin können neben den p-NPEOC-Resten auch Isobutyroyl-Schutzgruppen eingeführt werden. Schließlich eignen sich für Cytosin neben den p-NPEOC-Resten auch noch Benzoyl-Schutzgruppen.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Nucleosid-Derivate kann in zwei Stufen erfolgen. In der ersten Stufe a) wird ein Alkohol der allgemeinen Formel (II)

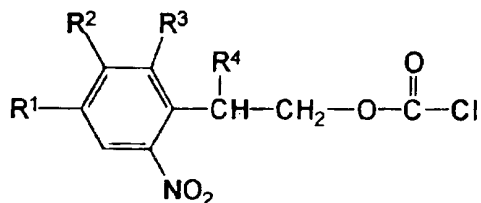


in der R^1 , R^2 , R^3 , R^4 die oben angegebene Bedeutung besitzen, mit einem Phosgen-Derivat vorzugsweise in einem unpolaren organischen Lösemittel bei Temperaturen zwischen -20 und $+25^\circ\text{C}$ zur Umsetzung gebracht. Als Phosgen-Derivat kann neben dem bevorzugten Phosgen auch Diphosgen (Chlorameisensäuretrichlormethylester) oder Triphosgen (Bis-trichlormethylcarbonat) verwendet werden.

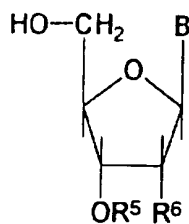
Die Alkoholkomponente ist in den meisten Fällen bekannt oder kann in analoger Weise nach bekannten Verfahren hergestellt werden. Als unpolares organisches Lösemittel wird in Stufe a)

vorzugsweise Toluol oder THF verwendet. Die Reaktionskomponenten können zwar in annähernd stöchiometrischem Verhältnis eingesetzt werden, doch wird das Phosgen-Derivat vorzugsweise in deutlichem Überschuß, bspw. in zwei- bis fünffachem molaren Überschuß, bezogen auf die Alkoholkomponente eingesetzt. Auch die Konzentration der Alkoholkomponente kann in weiten Grenzen variiert werden, doch hat es sich als besonders vorteilhaft erwiesen, diese Konzentration auf 0,1 bis 10,0 mmol pro 10 ml Solvens einzustellen.

Bei dieser Reaktion (Reaktionsdauer ca. 1 bis 6 Std.) entstehen in guter Reinheit und hoher Ausbeute (> 90 %) die entsprechenden Chlorkohlensäureester der allgemeinen Formel (IV)



Die Aufarbeitung der entsprechenden Produkte erfolgt vorzugsweise, indem man zunächst das überschüssige Phosgen sowie das Lösemittel im Vakuum abdestilliert. Der Chlorkohlensäureester (IV) kann dann ohne weitere Aufarbeitung in Stufe b) mit den Nucleosiden der allgemeinen Formel (III)



umgesetzt werden, wobei R⁵, R⁶ und B die oben angegebene Bedeutung besitzen.

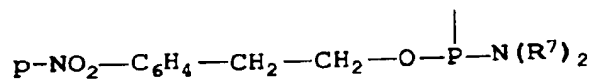
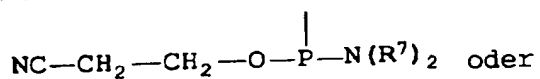
Die Umsetzung erfolgt vorzugsweise in einem Lösemittelgemisch bestehend aus Dichlormethan und einem polaren organischen Lösemittel ggf. in Gegenwart einer Base bei Temperaturen zwischen -60 und +25°C. Als polares organisches Lösemittel wird hierbei bevorzugt DMF oder Pyridin eingesetzt, wobei im Falle von Pyridin keine zusätzliche Base erforderlich ist. Wird jedoch mit Dichlormethan/DMF-Lösemittelgemischen gearbeitet, empfiehlt sich die Zugabe einer Base wie z.B. Pyridin, Triethylamin oder Ethyldiisopropylamin, um die bei der Reaktion freigesetzten Protonen abzufangen. Das Mischungsverhältnis Dichlormethan zu Pyridin bzw. DMF ist ebenfalls unkritisch, doch werden vorzugsweise 1 bis 3 Vol.-teile Dichlormethan pro Vol.-teil Pyridin bzw. DMF eingesetzt.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das entsprechende Nucleosid (III), welches in Pyridin oder DMF/Base gelöst wurde, vorgelegt und eine Lösung des Chlorkohlensäureesters in Dichlormethan bei der jeweiligen Reaktionstemperatur zugetropft. Das Molverhältnis von Nucleosid zu Chlorkohlensäureester kann hierbei entsprechend der Stöchiometrie auf ca. 1:1 eingestellt werden. Vorzugsweise wird jedoch der Chlorkohlensäureester im Überschuß eingesetzt, und zwar in einer solchen Menge, daß das Molverhältnis Nucleosid zu Chlorkohlensäureester 1:1 bis 1:2 beträgt. Schließlich kann auch die Konzentration des Nucleosids im Lösemittelgemisch in weiten Grenzen variiert werden, doch wird es bevorzugt auf 0,1 bis 3,0 mmol pro 10 ml Solvens eingestellt.

Nach erfolgter Umsetzung (Reaktionszeit ca. 1 bis 5 Std.) können die erfindungsgemäßen Nucleosid-Derivate nach bekannten Methoden isoliert bzw. gereinigt werden, wie z.B.

Verdünnen mit Dichlormethan, Auswaschen aller Salze mit Wasser, Trocknen der organischen Phase, Einengen der Lösung bzw. Kristallisation und anschließende Kieselgel-Chromatographie. Auf diese Weise können die entsprechenden Nucleosid-Derivate mit hoher Reinheit und in guten Ausbeuten (60 bis 85 %) erhalten werden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform kann man im Anschluß an die Reaktionsstufe b) in die 3'-Stellung der Nucleosid-Derivate mit $R^5 = H$ die Phosphitamid-Gruppe



nach bekannten Methoden einführen. Üblicherweise erfolgt diese Umsetzung mit den entsprechenden Phosphinen in Gegenwart von 1H-Tetrazol als Aktivator in einem Lösemittelgemisch bestehend aus Dichlormethan und Acetonitril bei Temperaturen zwischen 0 und 25°C. Vorzugsweise wird das Phosphin in zwei- bis dreifachem molaren Überschuß eingesetzt, während das Molverhältnis Phosphin zu 1H-Tetrazol auf 3:ca.1,0 eingestellt wird. Das Mengenverhältnis von Dichlormethan zu Acetonitril ist relativ unkritisch und beträgt vorzugsweise 1:1 bis 4:1. Nach erfolgter Umsetzung (ca. 10 bis 20 h) kann das entsprechende Nucleosid wie in Stufe b) beschrieben aufgearbeitet werden.

Wie Bestrahlungsversuche mit polychromatischem Licht mit Wellenlänge $> 289 \text{ nm}$ belegen, lassen sich die erfindungsgemäßen Nucleoside sehr rasch ($t_{0,5} = 1 \text{ bis } 7 \text{ Min.}$) und weitgehend entschützen (Ausbeuten bis zu 97 %), sodaß die besonderen Anforderungen an die Photolabilität der Schutzgruppen in hervorragender Weise erfüllt werden.

Aufgrund dieser besonderen Eigenschaften eignen sich die erfindungsgemäßen Nucleoside sehr gut für die Herstellung von Oligonucleotiden durch lichtgesteuerte Schutzgruppenabspaltung insbesondere auf festen Trägerplatten.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern.

Beispiel 1

a) 2-(2-Nitrophenyl)ethanol [1, 2]

Ein Gemisch von o-Nitrotoluol (9,2 g, 67 mmol) und Paraformaldehyd (0,8 g, 25 mmol) in DMSO (10 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde mit KOH (21 mg, 0,37 mmol) versetzt und 2,5 h bei 95°C gerührt. Das Lösemittel wurde im Hochvakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie (SiO₂, 20 x 3 cm, Lösemittel: Toluol 750 ml, Toluol/EtOAc 10:1 500 ml, 7:1 500 ml, 5:1 500 ml) gereinigt. Man erhielt 2-(2-Nitrophenyl)ethanol (2,33 g, 21 %) als gelbes Öl.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 10:1) 0,21

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (4,07), 256 (3,65), 348
(Schulter, 2,56)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,93 (dd, 1 arom. H, ortho zu NO₂);
7,49 (m, 3 arom. H); 3,96 (t, α-CH₂); 3,17 (t, β-CH₂),
1,72 (s, OH)

C₈H₉NO₃ (167,2)

Literatur:

- [1] G. M. Bennet, M. M. Hafez, J. Chem. Soc. 1941, 287
- [2] E. Uhlmann, W. Pfeleiderer, Helv. Chim. Acta 1981, 64, 1688

b) 2-(2-Nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

In eine Lösung von 2-(2-Nitrophenyl)ethanol (5,2 g, 31 mmol) in THF (20 ml, dest. über CaH₂) wurde bei Raumtemperatur unter Rühren Phosgen eingeleitet. Nach 1,5 h wurde das überschüssige Phosgen sowie das Lösemittel im Hochvakuum abdestilliert. Man erhielt 2-(2-Nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (6,69 g, 94 %) als gelbes Öl.

R_f (SiO₂, CHCl₃) 0,84

UV(CH₃CN), λ_{max} [nm] (log ε): 202 (4,12), 218 (Schulter, 3,74); 256 (3,70); 298 (Schulter, 3,16); 346 (Schulter, 2,59)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,99 (dd, H-C(3)); 7,48 (m, 3 arom. H); 4,62 (t, α-CH₂); 3,31 (t, β-CH₂)

Anal. ber. für C₉H₈ClNO₄ (229,62): C 47,08, H 3,51, N 6,10; gef.: C 47,30, H 3,70, N 6,00

c) 5'-O-(2-(2-Nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (1 g, 4,13 mmol) wurde mit Pyridin koevaporiert (2 x 10 ml pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet), in Pyridin (10 ml, s.o.) gelöst und auf -30°C gekühlt. In 10 min wurde hierzu eine Lösung von 2-(2-Nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (1,45 g, 6,31 mmol) getropft. Nach weiteren 4 h 50 min Rühren unter i-PrOH/N₂-Kühlung (-30 bis -15°C) wurde das Gemisch mit CH₂Cl₂ (150 ml) verdünnt und mit H₂O (150 ml) gewaschen. Die wäßrigen Phasen wurden mit CH₂Cl₂ (2 x 150 ml) nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert, einrotiert und mit Toluol (5 x 20 ml) und CH₂Cl₂ (2 x 20 ml) koevaporiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (SiO₂,

15 x 3,5 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂ 1300 ml, CH₂Cl₂/Aceton 20:1 1200 ml, 10:1 600 ml, 8:1 500 ml, 5:1 500 ml, 4:1 500 ml, 2:1 750 ml, 1:1 500 ml) gereinigt. Man erhielt 5'-O-(2-(2-Nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (1,15 g, 64 %) als farblosen Feststoff.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,46

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (4,31), 262 (4,12), 334 (Schulter, 2,64)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,92 (s (br), NH); 7,96 (dd, (H-C(3) v. NPEOC); 7,55 (t, 1 arom. H v. NPEOC); 7,42 (m, H-C(6) v. Thymin, 2 arom. H v. NPEOC); 6,35 (t, H-C(1')); 4,44 (m, H-C(3')), 2 x H-C(5'), α-CH₂ v. NPEOC); 4,15 (q, H-C(4')); 3,34 (m, β-CH₂ v. NPEOC); 2,89 (d, OH-C(3')); 2,41 (m, H-C(2')); 2,22 (m, H-C(2')); 1,85 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₁₉H₂₁N₃O₉ (435,39): C 52,41, H 4,86, N 9,65; gef.: C 52,07, H 5,15, N 9,65

Beispiel 2

a) 2-(2,6-Dinitrophenyl)ethanol [1]

Zu 2,6-Dinitrotoluol (18,2 g, 0,1 mol, 3 d im Hochvakuum über Blaugel getrocknet) und Paraformaldehyd (3 g, 0,1 mol) in DMSO (50 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde eine Lösung von Kaliumtertiärbutylat (1,8 g, 8 mmol) in tert.-Butanol (20 ml, Synthese-Qualität, 99 %) gegeben. Nach der Zugabe der Kaliumtertiärbutylat-Lösung trat ein Farbumschlag von gelb nach tief-violett ein. Es wurde 5 min bei Raumtemperatur und 10 min bei 70°C (Ölbadtemperatur) gerührt. Danach ließ man auf Raumtemperatur abkühlen, neutralisierte das Gemisch mit konz. HCl, verdünnte mit H₂O (300 ml) und versetzte es mit NaCl bis zur Sättigung. Die wäßrige Phase wurde mit EtOAc (3 x 500 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen

wurden mit gesättigter NaCl Lösung (300 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und einrotiert. Das Rohprodukt (24,3 g) wurde in wenig EtOAc in der Siedehitze gelöst, mit Petrolether (nachfolgend PE genannt) (100 ml) versetzt und im Eisfach zur Kristallisation gebracht. Der Niederschlag wurde abgesaugt und durch Säulenchromatographie (20,7 g verunreinigtes Produkt, 300 g SiO_2 , 18 x 6,5 cm, Lösemittel: Toluol/EtOAc 5:1, 4:1, 3:1) gereinigt. Mischfraktionen wurden einrotiert und durch erneute Säulenchromatographie (200 g SiO_2 , 20 x 5,3 cm, Lösemittel: Toluol/EtOAc 7:1) gereinigt. Man erhielt nach Einrotieren der reinen Produktfraktionen 2-(2,6-Dinitrophenyl)ethanol (13,6 g, 64 %) als gelben Feststoff.

R_f (SiO_2 , Toluol/EtOAc 9:1) 0,21

Schmelzpunkt: 69 bis 70°C (Lit. [1]: 69°C)

UV(MeOH), λ_{max} [nm] ($\log \epsilon$): 203 (4,20), 231 (4,00), 280
(Schulter, 3,17), 327 (Schulter, 2,80)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 8,00 (d, $J = 8,1$, H-C(3), H-C(5));
7,57 (t, $J = 8,1$, H-C(4)); 3,97 (q, $\alpha\text{-CH}_2$); 3,33 (t,
 $\beta\text{-CH}_2$); 1,69 (t, OH)

Anal. ber. für $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_5$ (212,16): C 45,29, H 3,80, N 13,20;
gef.: C 45,39, H 3,90, N 13,32

Literatur:

- [1] N. S. Girgis, H. B. Cottam, R. K. Robins,
J. Heterocycl. Chem. 1988, 25, 361

b) 2-(2,6-Dinitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von
Chlorameisensäuretrichlormethylester (3,81 g, 2,33 ml,
19,28 mmol) in THF (10 ml, dest. über CaH_2) wurde in 20 min
eine Lösung von 2-(2,6-Dinitrophenyl)ethanol (4,08 g,
19,23 mmol) und Et_3N (2,7 ml, 19,28 mmol) in THF (30 ml,

s.o.) zugetropft. Es wurde 25 min unter Eisbadkühlung und 1 h 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde über Celite filtriert. Nachwaschen des Filterkuchens mit THF, Abdestillieren des Lösemittels sowie des überschüssigen Reagenses von den vereinigten Filtraten und Trocknen im Hochvakuum ergaben 5,13 g 2-(2,6-Dinitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (97 %) als hellbraunen Feststoff.

R_f (SiO₂, CH₂Cl₂) 0,76

Schmelzpunkt: 84 bis 85°C

UV(CH₃CN), λ_{max} [nm] (log ε): 233 (4,02), 292 (Schulter, 3,11), 331 (Schulter, 2,82)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,10 (d, J = 8,2, H-C(3), H-C(5)); 7,67 (t, J = 8,1, H-C(4)); 4,67 (t, α-CH₂); 3,50 (t, β-CH₂);

Anal. ber. für C₉H₇ClN₂O₆ (274,616): C 39,36, H 2,57, N 10,20; gef.: C 39,40, H 2,60, N 10,20

c) 5'-O-(2-(2,6-Dinitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (1 g, 4,13 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 10 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (15 ml, s.o.) gelöst und auf -50°C gekühlt. Hierzu tropfte man in 1 h eine Lösung von 2-(2,6-Dinitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (1,7 g, 6,19 mmol) in CH₂Cl₂ (15 ml, dest. über CaH₂). Nach weiteren 3,5 h Rühren unter i PrOH/N₂-Kühlung (-50 bis -20°C) wurde das Gemisch mit CH₂Cl₂ (50 ml) verdünnt und mit H₂O (50 ml) gewaschen. Die wäßrigen Phasen wurden mit CH₂Cl₂ (2 x 50 ml) nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, einrotiert und mit Toluol (3 x 50 ml) koevaporiert. Das Rohprodukt (2,66 g) wurde in CH₂Cl₂/MeOH 2:1 (60 ml) in der Siedehitze digeriert. Der erhaltene weiße Niederschlag wurde abgesaugt und aus MeOH (25 ml) umkristallisiert. Man erhielt 5'-O-(2-(2,6-

Dinitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (855 mg, 43 %) als farblosen Feststoff. Die vereinigten Filtrate wurden zur Trockene einrotiert und durch Säulenchromatographie (1,4 g Rohprodukt, 56 g SiO₂ 17 x 3 cm, CH₂Cl₂/MeOH 100:5 1240 ml, 100:7 105 ml, 100:10 330 ml) gereinigt. Man erhielt 5'-O-(2-(2,6-Dinitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (691 mg, 34,8 %) als farblosen Feststoff. Die Ausbeute an 5'-O-(2-(2,6-Dinitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin betrug insgesamt 1,55 g (78 %).

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,41

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 206 (4,28), 244 (Schulter, 4,07), 256 (4,08) 355 (Schulter, 2,72)

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): 11,32 (s, NH), 8,27 (d, H-C(3), H-C(5)); 7,78 (t, H-C(4)); 7,40 (s, H-C(6) v. Thymin); 6,18 (t, H-C(1')); 5,44 (d, OH-C(3')); 4,37 (t, α-CH₂); 4,23 (m, H-C(3'), 2 x H-C(5')); 3,91 (m, H-C(4')); 3,29 (t, β-CH₂); 2,15 (m, 2 x H-C(2')); 1,71 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₁₉H₂₀N₄O₁₁ (480,386): C 47,51, H 4,20, N 11,66; gef.: C 47,40, H 4,15, N 11,57

Beispiel 3

a) 2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethanol [1]

Zu 2-Fluor-6-nitrotoluol (776 mg, 5 mmol) und Paraformaldehyd (150 mg, 5 mmol) in DMSO (2,5 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde eine Lösung von Kaliumtertiärbutylat (90 mg, 0,8 mmol) in tert.-Butanol (1 ml, Synthese-Qualität, 99 %) gegeben. Nach der Zugabe der Kaliumtertiärbutylat-Lösung trat ein Farbumschlag von gelb nach tief-violett ein. Es wurde 5 min bei Raumtemperatur und 30 min bei 70°C (Ölbadtemperatur) gerührt. Danach ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und neutralisierte mit wenigen Tropfen konz. HCl. Das Gemisch

wurde mit EtOAc (30 ml) verdünnt und mit H₂O (20 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit EtOAc (2 x 20 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren und Abrotieren des Lösemittels ergaben das Rohprodukt (1,11 g), welches durch Säulenchromatographie (20 g SiO₂, 12 x 2 cm, Lösemittel: PE 40 ml, PE/EtOAc 10:1 110 ml, 8:1 270 ml, 6:1 210 ml, 5:1 60 ml, 4:1 50 ml) gereinigt wurde. Man erhielt 2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethanol (653 mg, 71 %) als gelben Feststoff.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 9:1) 0,24

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (4,06), 251 (3,61), 294 (Schulter, 3,21)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,73 (m, 1 arom. H); 7,36 (m, 2 arom. H); 3,94 (t, α-CH₂); 3,21 (dt, J = 2,2, 6,5, β-CH₂); 1,67 (s (br), OH)

Anal. ber. für C₈H₈FN₂O₃ (185,154): C 51,90, H 4,36, N 7,57; gef.: C 51,92, H 4,40, N 7,42

Literatur:

[1] Chem. Abstr. 1989, 110, P 75032 k

b) 2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Chlorameisensäure-trichlormethylester (641 mg, 3,24 mmol) in THF (6,75 ml, dest. über CaH₂) wurde in 5 min eine Lösung von 2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethanol (500 mg, 2,7 mmol) und Et₃N (273 mg, 2,7 mmol, dest. über KOH) in THF (6,75 ml, s.o.) zugegeben. Man ließ 1 h unter Eisbadkühlung und 1 h bei Raumtemperatur rühren. Das Gemisch wurde über Celite filtriert. Nachwaschen des Filterkuchens mit THF und Abdestillieren des Lösemittels sowie des überschüssigen Reagenses von den vereinigten Filtraten bei 30°C im Hochvakuum ergaben 2-(2-Fluor-6-

nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (620 mg, 93 %) als hellbraunes Öl.

R_f (SiO₂, PE/EtOAc 19:1) 0,25

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 204 (4,04), 251 (3,67), 293 (Schulter, 3,23)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,83 (d, J = 7,7, 1 arom. H); 7,44 (m, 2 arom. H); 4,63 (t, α-CH₂); 3,37 (dt, J = 1,6, 6,4 β-CH₂)

Anal. ber. für C₉H₇ClFNO₄ (247,609): C 43,66, H 2,85, N 5,66; gef.: C 43,97, H 3,02, N 5,59

c) 5'-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (200 mg, 0,83 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 3 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (3 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu tropfte man in 20 min eine Lösung von 2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (280 mg, 1,13 mmol) in CH₂Cl₂ (3 ml, dest. über CaH₂). Man ließ 3 h 40 min unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-60 bis -15°C) und danach 1 h ohne Kältebad rühren, wobei die Temperatur gegen Ende bei 0°C lag. Die Reaktionsmischung wurde mit CH₂Cl₂ (10 ml) verdünnt und mit H₂O (10 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (3 x 10 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄. Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (3 x 10 ml) ergaben das Rohprodukt, welches durch Säulenchromatographie (20 g SiO₂ 12 x 2 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂/MeOH 100:1 50 ml, 100:2 102 ml, 100:3 206 ml, 100:3,5 103 ml, 100:4 208 ml) gereinigt wurde. Man eluierte zuerst 3',5'-Bis-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin, dann 3'-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin und zuletzt 5'-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin. Nach Abrotieren des

Lösemittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 3',5'-Bis-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (27 mg, 5 %) als hellgelben Schaum, 3'-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (15 mg, 4 %) als farblosen Schaum und 5'-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (262 mg, 70 %) als farblosen Feststoff.

5'-O-(2-(2-Fluor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin:

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,44

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (4,29), 261 (4,10),

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,09 (s (br), NH); 7,76 (m, 1 arom.

H v. FNPEOC); 7,41 (m, H-C(6) v. Thymin, 2 arom. H v.

FNPEOC), 6,35 (t, H-C(1')); 4,45 (m, H-C(3')), 2 x

H-C(5'), α-CH₂ v. FNPEOC); 4,14 (q, J = 3,2, H-C(4'));

3,36 (m, β-CH₂ v. FNPEOC); 2,40 (m, H-C(2')); 2,23 (m,

H-C(2'), OH-C(3')); 1,85 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₁₉H₂₀FN₃O₉ (453,379): C 50,34, H 4,45, N 9,27; gef.: C 50,22, H 4,49, N 9,18

Beispiel 4

a) 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethanol [1, 2]

Zu einem Gemisch aus 2-Chlor-6-nitrotoluol (25 g, 146 mmol) und Paraformaldehyd (1,9 g, 60 mmol) in DMSO (20 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) gab man Triton B (2 ml, 35 % in MeOH) und ließ bei 90°C rühren. Nach 2 h wurde das Reaktionsgemisch mit wenigen Tropfen konz. HCl neutralisiert, mit H₂O (50 ml) verdünnt und mit EtOAc (4 x 150 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Das Rohprodukt wurde durch Sublimation im Hochvakuum (p = 0,06 Torr, Ölbadtemperatur

95°C) gereinigt. Man erhielt 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethanol (8,01 g, 66 %) in Form von hellgelben Kristallen.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 10:1) 0,36

Schmelzpunkt: 59 bis 61°C

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 212 (4,13), 248 (3,48), 294
(Schulter, 3,03), 336 (Schulter, 2,58)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,70 (dd, 1 arom. H); 7,62 (dd, 1 arom. H); 7,31 (t, H-C(4)); 3,94 (q, α-CH₂); 3,26 (t, β-CH₂); 1,70 (t, OH)

Anal. ber. für C₈H₈ClNO₃ (201,61): C 47,66, H 4,00, N 6,95;
gef.: C 47,79, H 4,06, N 6,92

Literatur:

- [1] T. Morimoto, I. Hashimoto, H. Yamaoka, Chem. Abstr.
1978, 88, 104880 v.
- [2] Y. Tsuji, S. Kotachi, K.-T. Huh, Y. Watanabe, J. Org.
Chem. 1990, 55, 580

b) 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

In eine Lösung von 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethanol (31 g, 154 mmol) in THF (190 ml, dest. über CaH₂) wurde bei Raumtemperatur unter Rühren Phosgen eingeleitet. Nach 2,5 h wurden das überschüssige Phosgen sowie das Lösemittel im Hochvakuum abdestilliert. Man erhielt 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (39,4 g, 97 %) als gelbes Öl.

R_f (SiO₂, CHCl₃) 0,76

UV(CH₃CN), λ_{max} [nm] (log ε): 211 (4,14), 253 (3,53), 300
(Schulter, 3,02)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,81 (dd, 1 arom. H); 7,69 (dd, 1 arom. H); 7,41 (t, H-C(4)); 4,63 (t, α-CH₂); 3,46 (t, β-CH₂)

Anal. ber. für $C_9H_7Cl_2NO_4$ (264,06): C 40,94, H 2,67, N 5,30;
gef.: C 41,05, H 2,73, N 5,00

c) 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (4 g, 16,5 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 40 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (48 ml, s.o.) gelöst und auf -50°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu tropfte man in 2 h 45 min eine Lösung von 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (5,2 g, 19,8 mmol) in CH₂Cl₂ (48 ml, dest. über CaH₂). Man ließ weitere 30 min unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-50 bis -30°C) rühren. Die Reaktionsmischung wurde mit CH₂Cl₂ (100 ml) verdünnt und mit H₂O (100 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (2 x 100 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (3 x 50 ml) ergaben das Rohprodukt, welches durch Säulenchromatographie (305 g SiO₂, 22 x 5,9 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂ 200 ml, CH₂Cl₂/MeOH 100:2 1020 ml, 100:3 515 ml, 100:4 1560 ml, 100:5 850 ml, 100:6 318 ml, 100:8 324 ml, 100:9 654 ml) gereinigt wurde. Man eluierte zuerst eine Mischfraktion (1,4 g) von 3',5'-Bis-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin und 3'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin, dann eine Mischfraktion (367 mg) von 3'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin und 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin und zuletzt eine reine Fraktion von 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (6,21 g, 80 %, farbloser Feststoff). Die Mischfraktionen wurden durch weitere Säulenchromatographie gereinigt. Man erhielt 3',5'-Bis-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (1,175 g, 10 %) als hellgelben Schaum, 3'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (203 mg, 3 %) als farblosen Schaum und 5'-O-(2-(2-Chlor-6-

nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (182 mg, 2 %) als farblosen Feststoff. Die Gesamtausbeute an 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin betrug somit 6,392 g (82 %).

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,53

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 210 (4,36), 263 (4,05)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,11 (s, NH); 7,74 (d, J = 8,2, 1 arom. H v. ClNPEOC); 7,67 (d, J = 8,0, 1 arom. H v. ClNPEOC), 7,39 (t, H-C(4) v. ClNPEOC); 7,38 (s, H-C(6) v. Thymin); 6,36 (t, H-C(1')); 4,44 (m, α-CH₂ v. ClNPEOC, H-C(3')), 2 x H-C(5')); 4,15 (q, H-C(4')); 3,45 (t, β-CH₂ v. ClNPEOC); 2,38 (m, H-C(2')); 2,26 (m, H-C(2')), 2,18 (d, J = 3,9, OH-C(3')); 1,86 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₁₉H₂₀ClN₃O₉ (469,83): C 48,57, H 4,29, N 8,94; gef.: C 48,53, H 4,34, N 8,91

Beispiel 5

a) 2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethanol [1]

Zu 2-Brom-6-nitrotoluol (1,08 g, 5 mmol) und Paraformaldehyd (150 mg, 5 mmol) in DMSO (2,5 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde eine Lösung von Kaliumtertiärbutylat (90 mg, 0,8 mmol) in tert.-Butanol (1 ml, Synthese-Qualität, 99 %) gegeben. Nach der Zugabe der Kaliumtertiärbutylat-Lösung trat ein Farbumschlag von gelb nach tief-violett ein. Es wurde 5 min bei Raumtemperatur und 30 min bei 70°C (Ölbadtemperatur) gerührt. Danach ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und neutralisierte mit wenigen Tropfen konz. HCl. Das Gemisch wurde mit EtOAc (30 ml) verdünnt und mit H₂O (20 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit EtOAc (2 x 20 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren und Abrotieren des Lösemittels ergaben das

Rohprodukt (1,49 g), welches durch Säulenchromatographie (20 g SiO₂, 20 x 2 cm, Lösemittel: PE 45 ml, PE/EtOAc 10:1 110 ml, 8:1 180 ml, 7,5:1 340 ml, 6:1 140 ml) gereinigt wurde. Man erhielt 2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethanol (867 mg, 70 %) als gelben Feststoff.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 9:1) 0,32

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 204 (4,18), 210 (Schulter, 4,16), 251 (3,48), 293 (Schulter, 3,07)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,82 (dd, J = 1,1, 8,0, 1 arom. H); 7,74 (dd, J = 1,1, 8,2, 1 arom. H); 7,26 (m, H-C(4)); 3,96 (t, α-CH₂); 3,30 (t, β-CH₂); 1,75 (s (br), OH)

Anal. ber. für C₈H₈BrNO₃ (246,06): C 39,05, H 3,28, N 5,69; gef.: C 39,09, H 3,26, N 5,56

Literatur:

[1] Chem. Abstr. 1989, 110, P 75032 k

b) 2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Chlorameisensäuretrichlormethylester (442 mg, 2,23 mmol) in THF (5 ml, dest. über CaH₂) wurde in 10 min eine Lösung von 2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethanol (500 mg, 2,03 mmol) und Et₃N (206 mg, 2,03 mmol, dest. über KOH) in THF (5 ml, s.o.) zugegeben. Man ließ 5 min unter Eisbadkühlung und 1 h 45 min bei Raumtemperatur rühren. Das Gemisch wurde über Celite filtriert. Nachwaschen des Filterkuchens mit THF und Abdestillieren des Lösemittels sowie des überschüssigen Reagenses von den vereinigten Filtraten bei 30°C im Hochvakuum ergaben 2-(2-Brom-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (625 mg, 99,8 %) als hellbraunes Öl.

R_f (SiO₂, PE/EtOAc 19:1) 0,31

UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 205 (Schulter, 4,14), 211 (4,16), 254 (3,52), 297 (Schulter, 3,05)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 7,85 (2 arom. H); 7,33 (t, H-C(4)); 4,62 (t, $\alpha\text{-CH}_2$); 3,47 (t, $\beta\text{-CH}_2$)

Anal. ber. für $\text{C}_9\text{H}_7\text{BrClNO}_4$ (308,515): C 35,04, H 2,29, N 4,54; gef.: C 35,50, H 2,58, N 4,50

c) 5'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (200 mg, 0,83 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 3 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (3 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/ N_2) gekühlt. Hierzu tropfte man in 10 min eine Lösung von 2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (354 mg, 1,15 mmol) in CH_2Cl_2 (3 ml, dest. über CaH_2). Man ließ 3 h 40 min unter i-PrOH/ N_2 Kühlung (-60 bis -20°C) rühren. Die Reaktionsmischung wurde mit CH_2Cl_2 (10 ml) verdünnt und mit H_2O (10 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (2 x 10 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na_2SO_4 , Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (4 x 10 ml) ergaben das Rohprodukt (552 mg). Durch Kristallisation aus wenig CH_2Cl_2 und MeOH konnte 5'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (163 mg, 38 %) als farbloser Feststoff isoliert werden. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie (18 g SiO_2 , 11 x 2 cm, Lösemittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100:1 50 ml, 100:3 103 ml, 100:4 208 ml, 100:5 52 ml) gereinigt. Man eluierte zuerst 3',5'-Bis-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin, dann 3'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin und zuletzt 5'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin. Die Produktfraktionen wurden einrotiert und im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 3',5'-Bis-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (62 mg, 10 %) als farblosen Schaum, 3'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)-

ethoxycarbonyl)thymidin (8 mg, 2 %) als farbloses Öl und 5'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (151 mg, 35 %) als farblosen Feststoff. Die Gesamtausbeute an 5'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin betrug somit 314 mg (73 %).

5'-O-(2-(2-Brom-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,38

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ϵ): 210 (4,37), 263 (4,06)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,35 (s, NH); 7,85 (d, 1 arom. H v. BNPEOC); 7,76 (d, 1 arom. H v. BNPEOC), 7,38 (s, H-C(6) v. Thymin); 7,30 (t, H-C(4) v. BNPEOC, teilweise unter CHCl₃-Signal verborgen); 6,37 (t, H-C(1')); 4,45 (m, H-C(3')), 2 x H-C(5'), α -CH₂ v. BNPEOC); 4,15 (m, H-C(4')); 3,47 (t, β -CH₂ v. BNPEOC); 2,41 (m, H-C(2')), OH-C(3')); 2,25 (m, H-C(2')); 1,86 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₁₉H₂₀BrN₃O₉ (514,285): C 44,37, H 3,92, N 8,17; gef.: C 44,31, H 3,96, N 8,11

Beispiel 6

a) 2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethanol [1, 2, 3]

Ein Gemisch von 4-Chlor-2-nitrotoluol (50 g, 291 mmol) und Paraformaldehyd (3,8 g, 120 mmol) in DMSO (40 ml, Synthesqualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde mit Triton B (4 ml, 35 % in MeOH) versetzt und 2,5 h bei 90°C gerührt. Man neutralisierte mit wenigen Tropfen konz. HCl, verdünnte mit H₂O (100 ml) und extrahierte mit EtOAc (5 x 150 ml). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Der ölige Rückstand wurde durch Sublimation im Hochvakuum (p = 0,1 Torr, Ölbadtemperatur 110°C) gereinigt. Man erhielt 2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethanol (13,23 g, 55 %) in Form gelber Kristalle.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 10:1) 0,26

Schmelzpunkt: 61 bis 64°C

UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 213 (4,29), 252 (3,61), 294
(Schulter, 3,10)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,94 (d, J = 2,2, H-C(3)); 7,53 (dd, H-C(5)); 7,40 (d, H-C(6)); 3,93 (t, α -CH₂); 3,14 (t, β -CH₂); 1,70 (s, OH)

Anal. ber. für C₈H₈ClNO₃ (201,61): C 47,66, H 4,00, N 6,95;
gef.: C 47,69, H 4,01, N 6,76

Literatur:

- [1] J. Bakke, Acta Chem. Scand. 1969, 23, 3055
- [2] T. Morimoto, I. Hashimoto, H. Yamaoka, Chem. Abstr. 1978, 88, 104880 v
- [3] Y. Tsuji, S. Kotachi, K.-T. Huh, Y. Watanabe, J. Org. Chem. 1990, 55, 580

b) 2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

In eine Lösung von 2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethanol (6,8 g, 34 mmol) in THF (50 ml, dest. über CaH₂) wurde bei Raumtemperatur Phosgen eingeleitet. Nach 2,5 h wurde das überschüssige Phosgen sowie das Lösemittel im Hochvakuum abdestilliert. Man erhielt 2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (8,53 g, 95 %) als gelbes Öl.

R_f (SiO₂, CHCl₃) 0,85

UV(CH₃CN), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 213 (4,26); 254 (3,63); 300
(Schulter, 3,14)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,03 (d, H-C(3)); 7,59 (dd, H-C(5)); 7,36 (d, H-C(6)); 4,62 (t, α -CH₂); 3,32 (β -CH₂)

Anal. ber. für C₉H₇Cl₂NO₄ (264,06): C 40,94, H 2,67, N 5,30;
gef.: C 40,97, H 2,69, N 5,00

c) 5'-O-(2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (150 mg, 0,62 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 5 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin gelöst und auf -30°C gekühlt. Hierzu tropfte man in 5 min eine Lösung von 2-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (255 mg, 0,97 mmol) in CH₂Cl₂ (3 ml, dest. über CaH₂). Nach 4 h Rühren unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-30 bis -15°C) wurde das Gemisch mit CH₂Cl₂ (30 ml) verdünnt und mit H₂O (30 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (2 x 30 ml) nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und mit Toluol (4 x 10 ml) und CH₂Cl₂ (20 ml) koevaporiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (SiO₂ 15 x 3 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂/MeOH 100:7 700 ml) gereinigt. Man erhielt 5'-O-(4-Chlor-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (219 mg, 75 %) als farblosen Feststoff.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,36

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 212 (4,43), 261 (4,08), 310 (Schulter, 3,07)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,75 (s (br), NH); 7,94 (d, H-C(3) v. CNPEOC); 7,52 (dd, H-C(5)); 7,31 (m, H-C(6) v. CNPEOC, H-C(6) von Thymin); 6,32 (t, H-C(1')); 4,41 (m, H-C(3'), 2 x H-C(5'), α-CH₂ v. CNPEOC); 4,12 (q, H-C(4')); 3,27 (t, β-CH₂ v. CNPEOC); 2,75 (s, (br), OH-C(3')); 2,39 (m, H-C(2')), 2,19 (m, H-C(2')); 1,86 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₁₉H₂₀ClN₃O₉ (469,83): C 48,57, H 4,29, N 8,94; gef.: C 48,87, H 4,56, N 8,64

Beispiel 7

a) 2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethanol [1, 2]

Ein Gemisch aus 5-Methoxy-2-nitrotoluol (25 g, 150 mmol) und Paraformaldehyd (2,3 g, 73 mmol) in DMSO (20 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde bei 80°C mit Triton B (2 ml, 35 % in MeOH) versetzt. Nach 2,5 h Rühren bei dieser Temperatur ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und neutralisierte mit wenigen Tropfen konz. HCl. Das Gemisch wurde mit H₂O (50 ml) verdünnt und mit EtOAc (5 x 100 ml) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Der Rückstand wurde einer Destillation im Hochvakuum (p = 0,1 Torr) unterworfen, wobei bei 70°C eine Fraktion mit Edukt (12,1 g) erhalten wurde. Das restliche Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (240 g SiO₂, Lösemittel: Toluol/EtOAc 8:1 1400 ml, 7:1 1600 ml, 6:1 400 ml, 5:1 400 ml, 3:1 400 ml, 2:1 600 ml und 1:1 600 ml) gereinigt. Man erhielt 2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethanol (6,87 g, 48 %) als gelbes Öl.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 1:1) 0,43

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 204 (4,00), 231 (3,82); 301 (3,84)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,04 (dd, H-C(4)); 6,82 (m, H-C(3), H-C(6)); 3,94 (q, α-CH₂); 3,87 (s, OCH₃); 3,20 (t, β-CH₂); 1,64 (s (br), OH)

Anal. ber. für C₉H₁₁NO₄ (197,19): C 54,82, H 5,62, N 7,10;
gef.: C 54,78, H 5,86, N 7,00

Literatur:

- [1] T. Morimoto, I. Hashimoto, H. Yamaoka,
Chem. Abstr. 1978, 88, 104880 v
- [2] Y. Tsuji, S. Kotachi, K.-T. Huh, Y. Watanabe,
J. Org. Chem. 1990, 55, 580

b) 2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

In eine Lösung von 2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethanol (3,0 g, 15 mmol) in THF (40 ml, dest. über CaH_2) wurde bei Raumtemperatur unter Rühren Phosgen eingeleitet. Nach 2,5 h wurden das überschüssige Phosgen sowie das Lösemittel im Hochvakuum abdestilliert. Man erhielt 2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (3,72 g, 96 %) als gelbes Öl.

R_f (SiO_2 , CHCl_3) 0,79

UV(CH_3CN), λ_{max} [nm] (log ϵ): 222 (Schulter, 3,87), 230 (3,90), 303 (3,87)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 8,12 (d, H-C(3)); 6,88 (dd, H-C(4)); 6,79 (d, $J = 2,8$, H-C(6)), 4,63 (t, $\alpha\text{-CH}_2$); 3,89 (s, OCH_3); 3,35 (t, $\beta\text{-CH}_2$)

Anal. ber. für $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{ClNO}_5$: C 46,26, H 3,88, N 5,39; gef.: C 46,42, H 4,00, N 5,50

c) 5'-O-(2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (150 mg, 0,62 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 5 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (5 ml, s.o.) gelöst und auf -30°C ($i\text{-PrOH/N}_2$) gekühlt. Hierzu tropfte man in 5 min eine Lösung von 2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (250 mg, 0,96 mmol) in CH_2Cl_2 (5 ml, dest. über CaH_2). Nach insgesamt 4 h Rühren unter $i\text{-PrOH/N}_2$ Kühlung (-30 bis -15°C) wurde das Gemisch mit CH_2Cl_2 (30 ml) verdünnt und mit H_2O (30 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (2 x 30 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na_2SO_4 , Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (4 x 10 ml) und CH_2Cl_2 (10 ml) ergaben das Rohprodukt, welches durch

Säulenchromatographie (SiO₂, 16 x 3 cm, CH₂Cl₂/MeOH 100:6 800 ml) gereinigt wurde. Man erhielt 5'-O-(2-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (205 mg, 71 %) als farblosen Feststoff.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,32

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (4,30), 234 (Schulter, 3,94), 270 (4,09), 302 (Schulter, 3,84)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,79 (s, NH); 8,06 (H-C(3) v. MNPEOC); 7,34 (s, H-C(6) v. Thymin); 6,85 (dd, H-C(4) v. MNPEOC); 6,77 (d, J = 2,7, H-C(6) v. MNPEOC); 6,32 (t, H-C(1')); 4,43 (m, H-C(3'), 2 x H-C(5'), α-CH₂ v. MNPEOC); 4,12 (q, H-C(4')); 3,85 (s, OCH₃); 3,33 (m, β-CH₂ v. MNPEOC); 2,75 (d, OH-C(3')); 2,38 (m, H-C(2')); 2,18 (m, H-C(2')); 1,83 (s, CH₃)

Anal. ber. für C₂₀H₂₃N₃O₁₀ (465,42): C 51,61, H 4,98, N 9,03; gef.: C 51,31, H 5,09, N 8,63

Beispiel 8

a) 2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethanol

Zu einem Gemisch von 2,4-Dichlor-6-nitrotoluol (1,03 g, 5 mmol) und Paraformaldehyd (150 mg, 5 mmol) in DMSO (2,5 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde eine Lösung von Kaliumtertiärbutylat (90 mg, 0,8 mmol) in tert.-Butanol (1 ml, Synthese-Qualität, 99 %) gegeben. Nach der Zugabe der Kaliumtertiärbutylat-Lösung trat ein Farbumschlag von gelb nach tief-violett ein. Es wurde 5 min bei Raumtemperatur und 30 min bei 70 bis 80°C (Ölbadtemperatur) gerührt. Danach ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und neutralisierte mit wenigen Tropfen konz. HCl. Das Gemisch wurde mit EtOAc (30 ml) verdünnt und mit H₂O (30 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit EtOAc (2 x 30 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen

über Na_2SO_4 , Filtrieren und Abrotieren des Lösemittels ergaben das Rohprodukt, welches durch Säulenchromatographie (20 g SiO_2 , 12 x 2 cm, Lösemittel: PE 30 ml, PE/EtOAc 10:1' 110 ml, 9:1 100 ml, 8:1 360 ml, 7:1 80 ml) gereinigt wurde. Man erhielt 2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethanol (769 mg, 65 %) als gelben Feststoff.

R_f (SiO_2 , Toluol/EtOAc 9:1) 0,41

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ϵ): 205 (4,32), 218 (4,20), 254 (Schulter, 3,40), 292 (3,08)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 7,73 (d, $J = 2,0$, 1 arom H); 7,65 (d, $J = 2,0$, 1 arom. H); 3,92 (m, $\alpha\text{-CH}_2$); 3,26 (t, $\beta\text{-CH}_2$); 1,70 (s (br), OH)

Anal. ber. für $\text{C}_8\text{H}_7\text{Cl}_2\text{NO}_3$ (236,054): C 40,71, H 2,99, N 5,93; gef.: C 40,36, H 2,96, N 5,85

b) 2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Chlorameisensäuretrichlormethylester (503 mg, 2,5 mmol) in THF (5 ml, dest. über CaH_2) wurde in 5 min eine Lösung von 2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethanol (500 mg, 2,12 mmol) und Et_3N (214 mg, 2,12 mmol, dest. über KOH) in THF (5 ml, s.o.) zugegeben. Man ließ 1 h unter Eisbadkühlung und 2 h bei Raumtemperatur rühren. Das Gemisch wurde dann über Celite filtriert. Nachwaschen des Filterkuchens mit THF und Abdestillieren des Lösemittels und des überschüssigen Reagenses von den vereinigten Filtraten bei 30°C im Hochvakuum ergaben 2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (597 mg, 94 %) als hellgelben Feststoff.

R_f (SiO_2 , PE/EtOAc 19:1) 0,57

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ϵ): 204 (4,35), 217 (4,25), 252 (Schulter, 3,47), 295 (3,10)

^1H -NMR (250 MHz, CDCl_3): 7,82 (d, $J = 1,8$, 1 arom. H); 7,70 (d, $J = 1,8$, 1 arom. H); 4,59 (t, $\alpha\text{-CH}_2$); 3,42 (t, $\beta\text{-CH}_2$)

Anal. ber. für $\text{C}_9\text{H}_6\text{Cl}_3\text{NO}_4$ (298,509): C 36,21, H 2,03, N 4,69; gef.: C 36,37, H 2,30, N 4,60

c) 5'-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (200 mg, 0,83 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 3 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (3 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/ N_2) gekühlt. Hierzu tropfte man in 15 min eine Lösung von 2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (320 mg, 1,07 mmol) in CH_2Cl_2 (3 ml, dest. über CaH_2). Nach insgesamt 6 h Rühren unter i-PrOH/ N_2 Kühlung (-60 bis -15°C) wurde das Gemisch mit CH_2Cl_2 (10 ml) verdünnt und mit H_2O (10 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (2 x 10 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na_2SO_4 , Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (4 x 10 ml) ergaben das Rohprodukt (543 mg), welches durch Säulenchromatographie (20 g SiO_2 , 12,5 x 2,1 cm, Lösemittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100:1 50 ml, 100:2 204 ml, 100:3 360 ml) gereinigt wurde. Man eluierte zuerst 3',5'-Bis-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin, dann 3'-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin und 5'-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin. Die Produktfraktionen wurden einrotiert und im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 3',5'-Bis-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (53 mg, 8 %) als hellgelben Schaum sowie 3'-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (14 mg, 3 %) und 5'-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (339 mg, 81 %) jeweils als farblosen Schaum.

5'-O-(2-(2,4-Dichlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin:
R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,40
UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 203 (4,51), 214 (Schulter, 4,38), 263 (4,02), 304 (Schulter, 3,06)
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,91 (s, NH); 7,75 (d, J = 2,1, 1 arom. H v. DCNPEOC); 7,68 (d, J = 2,1, 1 arom. H v. DCNPEOC); 7,37 (s, H-C(6) v. Thymin); 6,37 (t, H-C(1')); 4,63 (m, H-C(3')), 2 x H-C(5'), α -CH₂ v. DC1NPEOC); 4,16 (m, H-C(4')); 3,40 (t, β -CH₂ v. DC1NPEOC); 2,86 (d, OH-C(3')); 2,42 (m, H-C(2')); 2,24 (m, H-C(2')); 1,89 (s, CH₃)
Anal. ber. für C₁₉H₁₉Cl₂N₃O₉ (504,279): C 45,25, H 3,80, N 8,33, gef.: C 45,02, H 3,89, N 8,04

Beispiel 9

a) 2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethanol [1]

Zu einer auf -10°C (Viehsalz/Eis) gekühlten Mischung aus Homoveratrylalkohol (3,02 g, 16,6 mmol) in Eisessig (30 ml) wurde in 6 min unter Rühren konz. HNO₃ (4,8 ml, 65 %, d = 1,4) zugetropft. Anschließend ließ man in 30 min auf 23°C erwärmen. Nach 1 h Rühren bei dieser Temperatur wurde das Gemisch mit H₂O (30 ml) verdünnt, mit NaHCO₃ neutralisiert und mit EtOAc (3 x 30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Der Rückstand (3,25 g) wurde durch Säulenchromatographie (90 g SiO₂ Toluol/EtOAc 4:1 500 ml, Toluol/EtOAc 3:1 400 ml, Toluol/EtOAc 2:1 300 ml) gereinigt. Man erhielt 2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethanol (2,13 g, 56 %) als gelben Feststoff.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 2:1) 0,24
UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 202 (4,18), 216 (4,06), 242 (3,97), 297 (3,63), 340 (3,70)

^1H -NMR-Spektrum (250 MHz, CDCl_3): 7,61 (s, H-C(3)); 6,80 (s, H-C(6)); 3,97 (s, OCH_3); 3,96 (m, $\alpha\text{-CH}_2$, versteckt); 3,95 (s, OCH_3); 3,21 (t, $\beta\text{-CH}_2$), 1,70 (s (br), OH)
Anal. ber. für $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_5$ (227,216): C 52,86, H 5,77, N 6,16;
gef.: C 52,87, H 5,82, N 6,12

Literatur

[1] E. McDonald, R. D. Wylie, Tetrahedron 1979, 35, 1415

b) 2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Chlorameisensäuretrichlormethylester (0,26 ml, 2,2 mmol) in THF (5 ml, dest. über CaH_2) wurde mittels eines Eisbades auf 0°C gekühlt. Hierzu tropfte man in 10 min eine Lösung von 2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethanol (500 mg, 2,2 mmol) und Et_3N (218 mg, 0,3 ml, 2,2 mmol, dest. über CaH_2) in THF (15 ml, dest. über CaH_2). Anschließend entfernte man das Eisbad und ließ bei Raumtemperatur weiterrühren. Nach 30 min Rühren versetzte man die Reaktionsmischung mit einer Spatelspitze Aktivkohle. Das Reaktionsgemisch wurde nach weiteren 2,5 h Rühren bei Raumtemperatur über Celite abgesaugt. Man destillierte das Lösemittel sowie überschüssiges Reagens im Hochvakuum vom Filtrat ab und erhielt 2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (624 mg, 98 %) als gelbbraunen Feststoff.

R_f (SiO_2 , Toluol/EtOAc 2:1) 0,77

UV(MeOH), λ_{max} [nm] ($\log \epsilon$): 203 (4,18), 217 (4,08), 242 (4,01), 297 (3,67), 339 (3,73)

^1H -NMR (250 MHz, CDCl_3): 7,67 (s, H-C(3)); 6,74 (s, H-C(6)); 4,66 (t, $\alpha\text{-CH}_2$); 3,99 (s, OCH_3); 3,96 (s, OCH_3); 3,36 (t, $\beta\text{-CH}_2$)

Anal. ber. für $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_6\text{Cl}$ (289,671): C 45,61, H 4,18, N 4,84; gef.: C 45,59, H 4,26, N 4,94

c) 5'-O-(2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin

Thymidin (200 mg, 0,83 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 2 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (2,4 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu tropfte man in 15 min eine Lösung von 2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (361 mg, 1,25 mmol) in CH₂Cl₂ (2,4 ml, dest. über CaH₂). Nach insgesamt 6,5 h Rühren unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-40 bis -15°C) wurde das Gemisch mit CH₂Cl₂ (10 ml) verdünnt und mit H₂O (10 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (2 x 10 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (4 x 20 ml) ergaben das Rohprodukt (530 mg), welches durch Säulenchromatographie (20 g SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 100:3 309 ml, 100:4 104 ml, 100:5 160 ml) gereinigt wurde. Man eluierte zuerst 3',5'-Bis-O-(2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin und dann 5'-O-(2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin. Die Produktfraktionen wurden einrotiert und im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 3',5'-Bis-O-(2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (154 mg, 25 %) und 5'-O-(2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (272 mg, 66 %) jeweils als hellgelbe Feststoffe.

5'-O-(2-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin:

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,23

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 203 (4,33), 212 (Schulter, 4,30), 247 (4,13), 267 (4,03), 343 (3,69)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 9,10 (s, NH); 7,62 (s, H-C(3)); 7,37 (d, J = 1,2, H-C(6) v. Thymin); 6,73 (s, H-C(6)); 6,35 (t, H-C(1')); 4,44 (m, H-C(3'), 2 x H-C(5'), α-CH₂ v. DMNPEOC); 4,15 (m, H-C(4')); 3,96 (s, OCH₃); 3,94 (s,

OCH₃); 3,33 (dt, β -CH₂ v. DMNPEOC); 3,06 (s (br), OH-C(3')); 2,42 (m, H-C(2')); 2,20 (m, H-C(2')); 1,88 (d, J = 0,9, CH₃)

Anal. ber. für C₂₁H₂₅N₃O₁₁ (495,441): C 50,91, H 5,09, N 8,48, gef.: C 50,94, H 5,09, N 8,32

Beispiel 10

a) 2-(2-Nitrophenyl)propanol [1, 2]

Zu 2-Nitroethylbenzol (3,02 g, 20 mmol) und Paraformaldehyd (600 mg, 20 mmol) in DMSO (10 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde eine Lösung von Kaliumtertiärbutylat (360 mg, 3,2 mmol) in tert.-Butanol (4 ml, dest. über CaH₂) gegeben. Es wurde 15 min bei Raumtemperatur und 1 h 45 min bei 70°C (Ölbadtemperatur) gerührt. Danach ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und neutralisierte mit wenigen Tropfen konz. HCl. Das Gemisch wurde mit EtOAc (100 ml) verdünnt und mit gesättigter NaCl-Lsg. (60 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit EtOAc (2 x 100 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren und Abrotieren des Lösemittels ergaben das Rohprodukt (5,06 g), welches durch Säulenchromatographie (80 g SiO₂, 19 x 3,4 cm, Lösemittel: Toluol 150 ml, Toluol/EtOAc 8:1 270 ml, 7:1 240 ml, 6:1 280 ml, 5:1 180 ml) gereinigt wurde. Man erhielt 2-(2-Nitrophenyl)propanol (2,539 g, 70 %) als hellgelbes Öl.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc 9:1) 0,25

UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 206 (4,08), 220 (Schulter, 3,75), 254 (3,53), 285 (Schulter, 3,27)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,75 (dd, J = 1,2, 8,1, 1 arom. H, ortho zu NO₂); 7,55 (m, 2 arom. H); 7,36 (m, 1 arom. H); 3,80 (m, α -CH₂); 3,52 (sextett, β -CH); 1,67 (s (br), OH); 1,33 (d, J = 6,9, CH₃)

Anal. ber. für $C_9H_{11}NO_3$ (181,191): C 59,66, H 6,12, N 7,73;
gef.: C 59,55, H 6,12, N 7,90

Literatur:

- [1] J. Org. Chem. 1986, 3143
- [2] Chem. Abstr. 1989, 110, P 75032 k.

b) 2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonylchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Chlorameisensäuretrichlormethylester (655 mg, 3,3 mmol) in THF (6,75 ml, dest. über CaH_2) wurde in 5 min eine Lösung von 2-(2-Nitrophenyl)propanol (500 mg, 2,76 mmol) und Et_3N (279 mg, 0,385 ml, 2,76 mmol, dest. über KOH) in THF (6,75 ml, s.o.) zugegeben. Man ließ 1 h unter Eisbadkühlung und 1 h bei Raumtemperatur rühren. Das Gemisch wurde über Celite filtriert. Nachwaschen des Filterkuchens mit THF und Abdestillieren des Lösemittels sowie des überschüssigen Reagenses von den vereinigten Filtraten bei 30°C im Hochvakuum ergaben 2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonylchlorid (644 mg, 96 %) als hellbraunes Öl.

R_f (SiO_2 , PE/EtOAc 19:1) 0,24

UV(MeOH), λ_{max} [nm] ($\log \epsilon$): 205 (4,07); 218 (Schulter, 3,75), 251 (3,59)

1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): 7,84 (dd, $J = 1,2, 8,0$, 1 arom. H, ortho zu NO_2); 7,62 (m, 1 arom. H); 7,44 (m, 2 arom. H); 4,50 (d, $J = 6,3$, α - CH_2); 3,80 (sextett β - CH_2); 1,42 (d, $J = 7,0$, CH_3)

Anal. ber. für $C_{10}H_{10}ClNO_4$ (243,646): C 49,30, H 4,14, N 5,75; gef.: C 49,71, H 4,32, N 5,70

c) 5'-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (1 g, 4,1 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 15 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (15 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu tropfte man in 30 min eine Lösung von 2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonylchlorid (1,31 g, 5,38 mmol) in CH₂Cl₂ (18 ml, dest. über CaH₂). Man ließ weitere 6 h unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-60 bis -20°C) rühren. Die Reaktionsmischung wurde mit CH₂Cl₂ (50 ml) verdünnt und mit H₂O (50 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (3 x 50 ml) nachextrahiert. Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (4 x 15 ml) ergaben das Rohprodukt (2,22 g), welches durch Säulenchromatographie (80 g SiO₂, 19 x 3,4 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂/MeOH 100:1 101 ml, 100:2 204 ml, 100:3 206 ml, 100:3,5 207 ml, 100:4 520 ml, 100:5 53 ml, 100:6 53 ml) gereinigt wurde. Man eluierte zuerst 3',5'-Bis-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin, dann 3'-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin und zuletzt 5'-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin. Nach Einrotieren der Produktfraktionen und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 3',5'-Bis-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin (145 mg, 5 %) als hellgelben Schaum sowie 3'-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin (71 mg, 4 %) und 5'-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin (1,307 g, 71 %) jeweils als farblosen Schaum.

5'-O-(2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl)thymidin:

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,43

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 207 (4,30), 263 (4,07)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,66 (s, NH, Diastereomer); 8,64 (s, NH, Diastereomer); 7,77 (m, 1 arom. H v. NPPOC); 7,59 (t, 1 arom. H v. NPPOC); 7,43 (m, 2 arom. H v. NPPOC); 7,33 (s, H-C(6) v. Thymin, Diastereomer); 7,30 (s,

H-C(6) v. Thymin, Diastereomer), 6,34 (t, H-C(1'), Diastereomer); 6,32 (t, H-C(1'), Diastereomer); 4,29 (m, H-C(3'), H-C(4'), 2 x H-C(5'), α -CH₂ v. NPPOC); 3,80 (m, β -CH v. NPPOC); 2,62 (d, J = 4,2, OH-C(3'), Diastereomer); 2,60 (d, J = 4,4, OH-C(3'), Diastereomer); 2,39 (m, H-C(2')); 2,18 (m, H-C(2')); 1,86 (s, CH₃ v. Thymin, Diastereomer); 1,75 (s, CH₃ v. Thymin, Diastereomer); 1,38 (d, J = 7,0, CH₃ v. NPPOC, Diastereomer); 1,37 (d, J = 7,0, CH₃ v. NPPOC, Diastereomer)

Anal. ber. für C₂₀H₂₃N₃O₉ (449,416): C 53,45, H 5,16, N 9,35;
gef.: C 53,14, H 5,21, N 9,16

Beispiel 11

a) 2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethanol

Eine Lösung von 2-Nitrobenzylchlorid (4,3 g, 25 mmol) in DMSO (3,5 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) wurde mit Paraformaldehyd (750 mg, 25 mmol) und DBU (0,5 ml, 3,3 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur 20 min gerührt. Der pH-Wert der Reaktionsmischung wurde mit wenigen Tropfen konz. AcOH auf etwa pH 3 eingestellt. Das Gemisch wurde mit CH₂Cl₂ (120 ml) verdünnt, mit H₂O gewaschen (80 ml) und mit CH₂Cl₂ (2 x 100 ml) nachextrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Das Rohprodukt (5,543 g) wurde durch Säulenchromatographie (150 g SiO₂, 22 x 4,1 cm, Lösemittel: Toluol 150 ml, Toluol/EtOAc 25:1 260 ml, 15:1 320 ml, 10:1 330 ml, 5:1 720 ml, 4:1 250 ml) gereinigt. Man eluierte zuerst das Edukt (2,587 g, 60 %), dann eine Mischfraktion (267 mg) und zuletzt 2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethanol (1,178 g, 23 % bzw. 61 % bezüglich des umgesetzten Edukts). Die erhaltene Mischfraktion (267 mg) wurde durch eine weitere Säulenchromatographie (8 g SiO₂, 15 x 1,2 cm; Lösemittel:

Toluol 50 ml, Toluol/EtOAc 100:1 50 ml) gereinigt. Es wurde zuerst weiteres Edukt (44 mg, 1 %) und dann 2-Nitrostyrolepoxid (68 mg, 2 % bzw. 4 % bzgl. des umgesetzten Edukts) eluiert. Die Gesamtmenge an zurückisoliertem Edukt betrug 2,631 g (61 %).

2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethanol (gelber Feststoff):

R_f (SiO₂, CH₂Cl₂) 0,23

Schmelzpunkt: 49 bis 50°C

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 209 (4,11), 254 (3,64), 332 (Schulter, 2,70)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 7,94 (dd, J = 1,3, 8,3, 1 arom. H); 7,89 (dd, J = 1,3, 7,9, 1 arom. H); 7,69 (m, 1 arom. H); 7,51 (m, 1 arom. H); 5,73 (dd, J = 4,6, 6,8, β-CH); 4,11 (dd, J = 4,6, 12,1, α-CH); 4,00 (dd, J = 6,8, 12,0, α-CH); 2,14 (s, OH)

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): 7,94 (dd, J = 1,2, 8,1, 1 arom. H); 7,86 (dd, J = 1,5, 7,9, 1 arom. H); 7,77 (dt, J = 1,2, 7,4, 1 arom. H); 7,60 (dt, J = 1,6, 8,3, 1 arom. H); 5,43 (t, J = 6,4, β-CH; s (br), teilweise versteckt, OH), 3,86 (d, J = 6,4, α-CH₂)

Anal. ber. für C₈H₈ClNO₃ (201,609): C 47,66, H 4,00, N 6,95; gef.: C 48,01, H 4,11, N 7,00

b) 2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Eine Lösung von Diphosgen (1,7 ml, 14 mmol) in THF (10 ml, dest. über CaH₂) wurde mittels eines Eisbades auf etwa 0°C gekühlt. Hierzu wurde eine Lösung von 2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethanol (705 mg, 3,5 mmol) und Et₃N (354 mg, 0,485 ml, 3,5 mmol) in THF (10 ml, dest. über CaH₂) in ca. 30 min gegeben. Nach einer weiteren Stunde Rühren wurde das Eisbad entfernt. Man ließ noch 3 h bei Raumtemperatur rühren. Das Gemisch wurde über Celite abfiltriert. Der Niederschlag wurde mit THF (10 ml, dest. über CaH₂) nachgewaschen. Die

vereinigten Filtrate wurden einrotiert und anschließend im Hochvakuum bei Raumtemperatur getrocknet. Man erhielt 2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (896 mg, 97 %) als hellbraunes Öl.

R_f (SiO₂, CH₂Cl₂) 0,82

UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 208 (4,11); 253 (3,66)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,01 (dd, J = 1,1, 8,1, 1 arom. H); 7,93 (dd, J = 1,1, 7,9, 1 arom. H); 7,74 (dt, J = 1,1, 8,2, 1 arom. H); 7,57 (m, 1 arom. H); 5,89 (dd, J = 4,9, 6,4, β -CH); 4,80 (dd, J = 6,5, 11,4, α -CH); 4,73 (dd, J = 4,9, 11,5, α -CH)

Anal. ber. für C₉H₇Cl₂NO₄ (264,064): C 40,94, H 2,67, N 5,30; gef.: C 41,39, H 2,89, N 5,38

c) 5'-O-(2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Thymidin (250 mg, 1,03 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 3 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (3,5 ml, s.o.) gelöst und auf ca. -40°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu wurde in ca. 30 min eine Lösung von 2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (356 mg, 1,35 mmol) in CH₂Cl₂ (3,5 ml, dest. über CaH₂) gegeben. Man ließ weitere 4 h 45 min unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-40 bis -10°C) rühren. Die Reaktionsmischung wurde mit H₂O (10 ml) verdünnt und mit CH₂Cl₂ (4 x 10 ml) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert, einrotiert und mit Toluol (4 x 10 ml) koevaporiert. Das Rohprodukt (665 mg) wurde durch Säulenchromatographie (20 g SiO₂, 12 x 2,1 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂ 100 ml, CH₂Cl₂/MeOH 100:1 101 ml, 100:2 102 ml, 100:2,5 102 ml, 100:3 206 ml, 100:4 104 ml, 100:5 105 ml) gereinigt. Man eluierte zuerst Bis-(2-Chlor-2-(2-nitro-phenyl)ethyl)carbonat (60 mg, 10 %) als gelbes Öl, anschließend 3',5'-Bis-O-(2-Chlor-2-(2-

nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (48 mg) als hellgelben Schaum, dann 3'-O-(2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)-ethoxycarbonyl)thymidin (16 mg, 3 %) als farblosen Schaum und zuletzt 5'-O-(2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin (394 mg, 81 %) als farblosen Schaum.

5'-O-(2-Chlor-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin:

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,34

UV(MeOH), λ_{\max} [nm] (log ϵ): 209 (4,34), 262 (4,10)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,37 (s, (br), NH); 7,97 (d, J = 8,1, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,91 (dd, J = 1,0, 7,9, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,72 (t, J = 7,3, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,55 (m, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,34 (m, H-C(6) v. Thymin), 6,35 (dd, J = 4,0, 6,7, H-C(1'), Diastereomer); 6,32 (dd, J = 3,9, 6,5, H-C(1'), Diastereomer); 5,89 (m, β -CH v. CNPEOC); 4,57 (m, α -CH₂ v. CNPEOC), H-C(3'), 2 x H-C(5')); 4,15 (q, J = 3,2, H-C(4')); 2,41 (m, H-C(2')); 2,22 (m, H-C(2')); 1,90 (s, CH₃ v. Thymin, Diastereomer); 1,86 (s, CH₃ v. Thymin, Diastereomer); 1,61 (s (br), OH-C(3'))

Anal. ber. für C₁₉H₂₀ClN₃O₉ (469,834): C 48,57, H 4,29, N 8,94; gef.: C 48,17, H 4,40, N 8,47

Beispiel 12

a) 2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethanol

Zu einer Lösung von 2-Nitrobenzylmethylether (4,18 g, 25 mmol) in DMSO (3,5 ml, Synthese-Qualität, zusätzlich 2 d über Molekularsieb 4 Å getrocknet) gab man Paraformaldehyd (750 mg, 25 mmol) und DBU (1,85 ml, 12,4 mmol) und ließ bei Raumtemperatur 4 h reagieren. Der pH-Wert wurde mit wenigen Tropfen konz. AcOH von pH 9 auf etwa pH 3,5 eingestellt. Das Gemisch wurde mit CH₂Cl₂ (120 ml) verdünnt und mit H₂O (80 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂

(2 x 80 ml) nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und einrotiert. Das Rohprodukt (5,56 g) wurde durch Säulenchromatographie (140 g SiO_2 , 21 x 4,2 cm, Lösemittel: Toluol 300 ml, Toluol/EtOAc 20:1 210 ml, 15:1 160 ml, 10:1 220 ml, 15:2 170 ml, 6:1 210 ml, 5:1 180 ml, 4:1 400 ml, 3:1 240 ml, 2:1 240 ml) gereinigt. Zuerst wurde 2-Nitrobenzylmethylether (2,442 g, 58 %) eluiert und dann 2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethanol (1,696 g, 34 % bzw. 82 % bezüglich des umgesetzten Edukts).

2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethanol (gelber Feststoff):

R_f (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100:3) 0,31

Schmelzpunkt: 61 bis 63°C

UV(MeOH), λ_{max} [nm] ($\log \epsilon$): 206 (4,09), 256 (3,66)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 8,00 (m, 1 arom. H); 7,70 (m, 2 arom. H); 7,48 (m, 1 arom. H); 4,95 (dd, $J = 3,2, 7,2$, $\beta\text{-CH}$); 3,94 (ddd, $J = 3,2, 8,8, 11,8$, $\alpha\text{-CH}$); 3,67 (ddd, $J = 4,4, 7,2, 11,7$, $\alpha\text{-CH}$); 3,31 (s, OCH_3); 2,29 (dd, $J = 4,4, 8,8$, OH)

Anal. ber. für $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_4$ (197,19): C 54,82, H 5,62, N 7,10;
gef.: C 55,14, H 5,57, N 7,15

b) 2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Diphosgen (1,2 ml, 10 mmol) in THF (15 ml, dest. über CaH_2) wurde in 1 h eine Lösung von 2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethanol (986 mg, 5 mmol) und Et_3N (506 mg, 0,693 ml, 5 mmol) in THF (10 ml, dest. über CaH_2) gegeben. Nach weiteren 15 min Rühren bei 0°C wurde das Eisbad entfernt. Man ließ noch 1 h 30 min bei Raumtemperatur rühren. Das Gemisch wurde über Celite abfiltriert und der Niederschlag wurde mit THF (30 ml, dest. über CaH_2) nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden einrotiert und im Hochvakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

Man erhielt 2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (1,264 g, 97 %) als hellbraunes Öl.

R_f (SiO₂, CH₂Cl₂) 0,73

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (4,12), 253 (3,71), 348 (Schulter, 2,74)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,07 (dd, J = 1,1, 8,2, 1 arom. H); 7,81 (dd, J = 1,6, 7,8, 1 arom. H); 7,73 (dt, J = 1,1, 7,6, 1 arom. H); 7,54 (m, 1 arom. H); 5,13 (dd, J = 3,2, 6,3, β-CH); 4,60 (dd, J = 3,2, 11,2, α-CH); 4,54 (dd, J = 6,4, 11,3, α-CH)

Anal. ber. für C₁₀H₁₀ClNO₅ (259,645): C 46,26, H 3,88, N 5,39; gef.: C 46,74, H 3,88, N 5,40

c) 5'-O-(2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin

Thymidin (250 mg, 1,03 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 3 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (3,5 ml, s.o.) gelöst und auf ca. -50°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu wurde in ca. 1,5 h eine Lösung von 2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (348 mg, 1,34 mmol) in CH₂Cl₂ (3,5 ml, dest. über CaH₂) gegeben. Man ließ weitere 3,5 h unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-40 bis -10°C) rühren. Die Reaktionsmischung wurde mit H₂O (10 ml) verdünnt und mit CH₂Cl₂ (3 x 10 ml) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert, einrotiert und mit Toluol (4 x 10 ml) koevaporiert. Das Rohprodukt (578 mg) wurde durch Säulenchromatographie (20 g SiO₂, 12 x 2,1 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂ 100 ml, CH₂Cl₂/MeOH 100:1 202 ml, 100:2 102 ml, 100:3 103 ml, 100:4 104 ml, 100:5 105 ml, 100:6 106 ml) gereinigt. Man eluierte zuerst Bis(2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethyl)carbonat (88 mg, 16 %) als hellgelben Feststoff und dann eine Mischfraktion von 3'-O-(2-Methoxy-2-

(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin und 5'-O-(2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (323 mg). Die Mischfraktion wurde durch erneute Säulenchromatographie (7 g SiO₂, 13 x 1,2 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂ 30 ml, CH₂Cl₂/MeOH 100:1 50 ml, 100:2 51 ml, 100:2,5 51 ml, 100:3 51 ml, 100:4 52 ml, 100:5 52 ml) gereinigt. Es wurde zuerst 3'-O-(2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin (11 mg, 2 %) und dann 5'-O-(2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-thymidin (290 mg, 60 %) jeweils als farbloser Schaum eluiert.

5'-O-(2-Methoxy-2-(2-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin:

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,40

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 207 (4,33), 263 (4,12)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,67 (s (br), NH); 8,03 (d, J = 5,0, 1 arom. H v. MNPEOC); 7,78 (m, 1 arom. H v. MNPEOC); 7,70 (t, J = 7,5, 1 arom. H v. MNPEOC); 7,52 (m, 1 arom. H v. MNPEOC); 7,43 (m, H-C(6) v. Thymin); 6,38 (dd, J = 3,8, 6,7, H-C(1'), Diastereomer); 6,35 (dd, J = 3,7, 6,4, H-C(1'), Diastereomer); 5,14 (m, β-CH v. MNPEOC); 4,42 (m, α-CH₂ v. MNPEOC, H-C(3'), 2 x H-C(5')); 4,15 (q, J = 3,2, H-C(4')); 3,28 (s, OCH₃, Diastereomer); 3,27 (s, OCH₃, Diastereomer); 2,64 (s (br), OH-C(3')); 2,42 (m, H-C(2')); 2,23 (m, H-C(2')); 1,94 (s, CH₃ v. Thymin, Diastereomer); 1,92 (s, CH₃ v. Thymin, Diastereomer)

Anal. ber. für C₂₀H₂₃N₃O₁₀ (465,415): C 51,51, H 4,98, N 9,03; gef.: C 51,65, H 5,18, N 8,94

Beispiel 13

5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁴-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxycytidin

N⁴-(2-(4-Nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxycytidin (5 g, 11,9 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 60 ml, pro analysi-

Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (60 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu tropfte man in 75 min eine Lösung von 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonylchlorid (4,7 g, 17,8 mmol) in CH₂Cl₂ (60 ml, dest. über CaH₂) und ließ 1 h 45 min unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-40 bis -25°C) rühren. Das Gemisch wurde mit CH₂Cl₂ (150 ml) verdünnt und mit H₂O (100 ml) gewaschen. Die wäßrigen Phasen wurden mit CH₂Cl₂ (100 ml) nachextrahiert. Trocknen der organ. Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (3 x 50 ml) ergaben das Rohprodukt (9,8 g), welches durch Säulenchromatographie (440 g SiO₂, 32 x 5,9 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂/MeOH 100:4) gereinigt wurde. Man erhielt 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁴-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxycytidin (5,247 g, 68 %) als farblosen Schaum.

R_f (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 5:1) 0,82

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 205 (Schulter, 4,56), 211 (4,58), 242 (4,28), 275 (4,17)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,18 (m, 2 arom. H v. NPEOC, ortho zu NO₂); 8,04 (d, H-C(6) v. Cytosin); 8,03 (s (br), NH, teilweise verborgen); 7,73 (dd, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,66 (dd, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,41 (m, 2 arom. H v. NPEOC, meta zu NO₂); 7,37 (t, H-C(4) v. CNPEOC, teilweise verborgen); 7,22 (d, H-C(5) v. Cytosin), 6,34 (t, H-C(1')); 4,43 (m, H-C(3'), 2 x H-C(5'), α-CH₂ v. CNPEOC, α-CH₂ v. NPEOC); 4,26 (m, H-C(4')); 3,76 (s (br), OH-C(3')); 3,43 (t, β-CH₂ v. CNPEOC); 3,12 (t, β-CH₂ v. NPEOC); 2,73 (m, H-C(2')); 2,14 (m, H-C(2'))

Anal. ber. für C₂₇H₂₆N₅O₁₂Cl (647,981): C 50,05, H 4,04, N 10,81; gef.: C 49,87, H 4,17, N 10,74

Beispiel 14

5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁶-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxyadenosin

N⁶-(2-(4-Nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxyadenosin (5 g, 11,3 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 60 ml, pro analysi-Qualität, zusätzlich über Molekularsieb 4 Å getrocknet) koevaporiert, in Pyridin (60 ml, s.o.) gelöst und auf -60°C (i-PrOH/N₂) gekühlt. Hierzu tropfte man in 2 h eine Lösung von 2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylchlorid (4,17 g, 15,8 mmol) in CH₂Cl₂ (60 ml, dest. über CaH₂). Nach weiteren 2 h Rühren unter i-PrOH/N₂ Kühlung (-40 bis -25°C) wurde das Gemisch mit CH₂Cl₂ (150 ml) verdünnt und mit H₂O (100 ml) gewaschen. Die wäßrigen Phasen wurden mit CH₂Cl₂ (100 ml) nachextrahiert. Trocknen der organ. Phasen über Na₂SO₄, Filtrieren, Abrotieren des Lösemittels und Koevaporieren mit Toluol (3 x 50 ml) ergaben das Rohprodukt (8,73 g), welches durch Säulenchromatographie (400 g SiO₂, 28 x 5,7 cm, Lösemittel: CH₂Cl₂/MeOH 100:3) gereinigt wurde. Man erhielt 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁶-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxyadenosin (6,318 g, 83 %) als farblosen Schaum.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,33

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ε): 209 (4,67), 266 (4,46)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,71 (s, H-C(8)); 8,53 (s (br), NH, teilweise verborgen), 8,23 (s, H-C(2)); 8,17 (m, 2 arom. H v. NPEOC, ortho zu NO₂); 7,73 (dd, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,65 (dd, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,44 (m, 2 arom. H v. NPEOC, meta zu NO₂); 7,36 (t, H-C(4) v. CNPEOC, teilweise verborgen); 6,54 (t, H-C(1')); 4,77 (m, H-C(3')); 4,55 (t, α-CH₂ v. CNPEOC); 4,41 (m, α-CH₂ v. NPEOC, 2 x H-C(5')); 4,29 (q, H-C(4')); 3,43 (t, β-CH₂ v. CNPEOC); 3,16 (t, β-CH₂ v. NPEOC); 3,15 (s

(br), OH-C(3'), teilweise verborgen); 2,89 (m, H-C(2'));
2,60 (m, H-C(2'))

Anal. ber. für $C_{28}H_{26}N_7O_{11}Cl$ (672,007): C 50,05, H 3,90, N
14,59; gef.: C 49,62, H 3,96, N 14,33

Beispiel 15

5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylthymidin-3'-O-
((β -cyanoethyl)(N,N-diisopropylamino)phosphitamid)

In einem mit Argon gespülten Kolben wurden 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylthymidin (1,9 g, 4 mmol) und 1H-Tetrazol (140 mg, 2 mmol) in CH_2Cl_2 (20 ml, dest. über CaH_2) und CH_3CN (8 ml, pro analysi-Qualität) suspendiert und mit Bis(diisopropylamino)(β -cyanoethoxy)phosphin (1,87 g, 6,2 mmol) versetzt. Nach 16,5 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Gemisch mit CH_2Cl_2 (50 ml) verdünnt und mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lsg. (25 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (2 x 25 ml) nachextrahiert. Trocknen der organ. Phasen über Na_2SO_4 , Filtrieren und Abrotieren des Lösemittel ergaben das Rohprodukt (3,4 g), welches durch Säulenchromatographie (40 g SiO_2 , 12 x 3,1 cm, Lösemittel: Toluol/EtOAc 5:1 160 ml, 4:1 150 ml, 3:1 120 ml, 2:1 150 ml, 1:1 100 ml, 1:2 150 ml, 1:3 160 ml, jeweils unter Zugabe von 1 Vol.-% Et_3N) gereinigt wurde. Man erhielt 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonylthymidin-3'-O-((β -cyanoethyl)(N,N-diisopropylamino)phosphitamid) (2,012 g, 75 %) als farblosen Schaum.

R_f (Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,64 und 0,70

(Diastereomere)

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ϵ): 205 (4,45), 262 (4,06)

1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): 8,40 (s, NH); 7,74 (td, 1 arom. H v. CNPEOC; 7,66 (dd, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,38 (m, H-C(4) v. CNPEOC); 6,37 (m, H-C(1')); 4,61 bis 4,35 (m,

H-C(3'), 2 x H-C(5'), α -CH₂ v. CNPEOC); 4,28 (m, H-C(4'), Diastereomer); 4,22 (m, H-C(4'), Diastereomer); 3,90 - 3,66 (m, α -CH₂ v. Cyanoethoxy); 3,57 (m, 2 x NCH); 3,43 (td, β -CH₂ v. CNPEOC); 2,66 (t, β -CH₂ v. Cyanoethoxy); 2,48 (m, H-C(2')); 2,23 (m, H-C(2')); 1,86 (d, CH₃); 1,23 (m, 2 x NC(CH₃)₂)

³¹P-NMR (161,7 MHz, CDCl₃): 149,73 und 149,85 (Diastereomere)

Anal. ber. für C₂₈H₃₇N₅O₁₀PCl (670,056): C 50,19, H 5,57, N 10,45; gef.: C 50,43, H 5,90, N 10,43

Beispiel 16

5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁴-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxycytidin-3'-O-((β -cyanoethyl)(N,N-diisopropylamino)phosphitamid)

In einem mit Argon gespülten Kolben wurden 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁴-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxycytidin (1,9 g, 2,9 mmol) und 1H-Tetrazol (102 mg, 1,45 mmol) in CH₂Cl₂ (20 ml, dest. über CaH₂) und CH₃CN (8 ml, pro analysi-Qualität) mit Bis(diisopropylamino)(β -cyanoethoxy)phosphin (1,32 g, 4,38 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 13,5 h wurde die Lösung mit CH₂Cl₂ (50 ml) verdünnt und mit gesättigter NaHCO₃-Lsg. (25 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (2 x 25 ml) nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Das Rohprodukt (2,99 g) wurde durch Säulenchromatographie (61 g SiO₂, 18 x 3,2 cm, Lösemittel: PE/Aceton 5:1 170 ml, 4:1 200 ml, 3:1 200 ml, 2:1 600 ml, 3:2 150 ml, 1:1 80 ml, 2:3 300 ml, 1:2 90 ml) gereinigt. Man erhielt 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁴-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxycytidin-3'-O-

((β -cyanoethyl)(N,N-diisopropylamino)phosphitamid) (2,29 g, 93 %) als farblosen Schaum.

R_f (SiO₂, Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,61 und 0,67
(Diastereomere)

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ϵ): 203 (4,66), 209 (Schulter, 4,64), 241 (4,30), 276 (Schulter, 4,18)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 8,18 (m, 2 arom. H v. NPEOC), ortho zu NO₂); 8,02 (m, H-C(6) v. Cytosin); 7,74 (td, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,66 (dd, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,40 (m, 2 arom. H v. NPEOC, meta zu NO₂); 7,39 (m, H-C(4) v. CNPEOC, teilweise verborgen); 7,17 (d, H-C(5) v. Cytosin); 6,28 (m, H-C(1')); 4,47 bis 4,29 (m, α -CH₂ v. NPEOC), α -CH₂ v. CNPEOC), H-C(3'), H-C(4'), 2 x H-C(5')); 3,90 bis 3,53 (m, α -CH₂ v. Cyanoethoxy, 2 x NCH); 3,43 (t, β -CH₂ v. CNPEOC); 3,12 (t, β -CH₂ v. NPEOC); 2,73 (m, H-C(2') teilweise verborgen); 2,65 (t, β -CH₂ v. Cyanoethoxy); 2,17 (m, H-C(2')); 1,23 (m, 2 x NC(CH₃)₂)

³¹P-NMR (161,7 MHz, CDCl₃): 149,67 und 150,02
(Diastereomere)

Anal. ber. für C₃₆H₄₃N₇O₁₃PCl (848,203): C 50,98, H 5,11, N 11,56; gef.: C 50,88, H 5,18, N 11,36

Beispiel 17

5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁶-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxyadenosin-3'-O-((β -cyanoethyl)(N,N-diisopropylamino)phosphitamid)

In einem mit Argon gespülten Kolben wurde ein Gemisch von 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-N⁶-(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxyadenosin (2 g, 2,98 mmol) und 1H-Tetrazol (104 mg, 1,49 mmol) in CH₂Cl₂ (20 ml, dest. über CaH₂) und CH₃CN (8 ml, pro analysi-

Qualität) mit Bis(diisopropylamino) (β -cyanoethoxy)phosphin (1,36 g, 4,51 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur 13,5 h gerührt. Die Lösung wurde mit CH_2Cl_2 (50 ml) verdünnt und mit gesättigter NaHCO_3 -Lsg. (25 ml) gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (2 x 25 ml) nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und einrotiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (92 g SiO_2 , 13 x 4,2 cm, Lösemittel: PE/Aceton 6:1 140 ml, 5:1 180 ml, 4:1 200 ml, 3:1 240 ml, 2:1 750 ml, 3:2 150 ml, 1:1 400 ml, 2:3 600 ml, jeweils unter Zugabe von 1 Vol.-% Et_3N) gereinigt. Man erhielt 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)- N^6 -(2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)-2'-desoxyadenosin-3'-O-((β -cyanoethyl)(N,N-diisopropylamino)phosphitamid) (2,146 g, 83 %) als farblosen Schaum.

R_f (SiO_2 , Toluol/EtOAc/MeOH 5:4:1) 0,71 und 0,76
(Diastereomere)

UV(MeOH), λ_{max} [nm] (log ϵ): 205 (4,68), 266 (4,43)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 8,74 (d, H-C(8) v. Adenin); 8,23 (s, H-C(2) v. Adenin); 8,18 (m, 2 arom. H v. NPEOC, ortho zu NO_2); 7,73 (m, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,65 (m, 1 arom. H v. CNPEOC); 7,44 (m, 2 arom. H v. NPEOC, meta zu NO_2); 7,36 (t, H-C(4) v. CNPEOC); 6,52 (m, H-C(1')); 4,77 (m, H-C(3')); 4,54 (t, α - CH_2 v. CNPEOC); 4,39 (m, α - CH_2 v. NPEOC, H-C(4'), 2 x H-C(5')); 3,93 bis 3,59 (m, 2 x NCH, α - CH_2 v. Cyanoethoxy); 3,41 (td, β - CH_2 v. CNPEOC); 3,16 (t, β - CH_2 v. NPEOC); 2,90 (m, H-C(2')); 2,71 (m, H-C(2'), teilweise verborgen); 2,67 (m, β - CH_2 v. Cyanoethoxy); 1,24 (m, 2 x $\text{NC}(\text{CH}_3)_2$)

$^{31}\text{P-NMR}$ (161,7 MHz, CDCl_3): 149,70 und 149,79
(Diastereomere)

Anal. ber. für $\text{C}_{37}\text{H}_{43}\text{N}_9\text{O}_{12}\text{PCL}$ (872,229): C 50,95, H 4,97, N 14,45; gef.: C 50,92, H 5,11, N 14,21

Zusammenfassung der Herstellungsbeispiele

Bsp.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	B
1	H	H	H	H	H	H	Thymin
2	H	H	NO ₂	H	H	H	Thymin
3	H	H	F	H	H	H	Thymin
4	H	H	Cl	H	H	H	Thymin
5	H	H	Br	H	H	H	Thymin
6	Cl	H	H	H	H	H	Thymin
7	H	OCH ₃	H	H	H	H	Thymin
8	Cl	H	Cl	H	H	H	Thymin
9	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	H	Thymin
10	H	H	H	CH ₃	H	H	Thymin
11	H	H	H	Cl	H	H	Thymin
12	H	H	H	OCH ₃	H	H	Thymin
13	H	H	Cl	H	H	H	N ⁴ - (2-pNPEOC) - Cytosin
14	H	H	Cl	H	H	H	N ⁶ - (2-pNPEOC) - Adenin
15	H	H	Cl	H	$\begin{array}{c} \text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{CN} \\ \\ -\text{P}-\text{N} \begin{array}{l} \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array} \end{array}$	H	Thymin
16	H	H	Cl	H	$\begin{array}{c} \text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{CN} \\ \\ -\text{P}-\text{N} \begin{array}{l} \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array} \end{array}$	H	N ⁴ - (2-pNPEOC) - Cytosin
17	H	H	Cl	H	$\begin{array}{c} \text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{CN} \\ \\ -\text{P}-\text{N} \begin{array}{l} \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array} \end{array}$	H	N ⁶ - (2-pNPEOC) - Adenin

Bestrahlungsexperimente

1. Durchführung

Die entsprechend geschützten Thymidin-Nucleoside wurden mittels einer Bestrahlungsapparatur bestrahlt, die aus einer Hg-Höchstdrucklampe (OSRAM HBO, 200 W), einer Sammellinse, einem Verschluß mit einem elektronischen Steuergerät zur Einstellung der Verschlußzeiten sowie einem temperierbaren Küvettenhalter bestand. Es war außerdem ein Wärmefilter (0,032 molare CuSO_4 -Lsg.) zwischen Lampe und Probe eingebaut. Es wurden 0,2 mM Lösungen der Nucleoside in $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 bei 20 bis 30°C mit dem gesamten Lampenspektrum (polychromatisches Licht mit Wellenlängen $\lambda > 289 \text{ nm}$) belichtet.

Die Abspaltung der Schutzgruppen wurde durch HPLC quantitativ verfolgt. Die HPLC-Anlage bestand aus folgenden Geräten: Merck-Hitachi L-6200 Intelligent Pump, Merck-Hitachi Intelligent Auto Sampler AS 4000, Merck-Hitachi Interface, Merck Lichrosorb-Säule RP 18, 125 x 5 mm. Das UV/VIS-Spektrophotometer war ein UVIKON 730 LC der Fa. Kontron. Die Detektion erfolgte bei 260 nm. Die Integration der Chromatogramm-Signale erfolgte mittels Software der Fa. Merck: D-6000 HPLC-Manager.

Es wurde grundsätzlich in $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ -Gemischen chromatographiert. Dabei wurde folgender Gradient verwendet (Flow: 1 ml/min):

Zeit (min)	MeOH/H ₂ O 1:1	H ₂ O	MeOH
0	10	90	0
5	10	90	0
15	90	10	0
30	50	0	50
35	10	90	0

Für Thymidin und die geschützten Nucleoside wurden durch Einspritzen von Verdünnungsreihen in den Chromatographen Eichkurven erstellt.

Aus den belichteten Lösungen wurden nach bestimmten Zeitintervallen Proben (Schleifen-Volumen: 20 µl) entnommen. Jede Probe wurde zweimal in den Chromatographen eingespritzt. Für die weitere Auswertung wurden die Mittelwerte dieser Doppelbestimmungen genommen. Die Peakflächen der Chromatogramme wurden mittels der oben erstellten Eichkurven in die Konzentrationen der geschützten Nucleoside bzw. von Thymidin umgerechnet. Die so erhaltenen Konzentrationswerte wurden durch die maximal erreichbare Konzentration von 0,2 mM (= Konzentration der geschützten Nucleoside zu Beginn der Belichtung) dividiert und als "Relative Menge" in Prozent gegen die Bestrahlungszeit aufgetragen. Die in Abschnitt 2.3 angegebene Tabelle zeigt ein Resultat einer solchen Messung mit der Verbindung 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonyl)thymidin.

2. Beispiele

2.1 Eichung Thymidin

Für die Eichung von Thymidin wurde eine Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen erstellt: 0,2 mM, 0,16 mM, 0,12 mM, 0,08 mM und 0,04 mM. Hiervon wurden je Konzentration drei

Einspritzungen in den Chromatographen gemacht. Aus den resultierenden Mittelwerten sowie dem Nullpunktswert (0 Peakfläche = 0 Konzentration) wurden mittels linearer Regression die Eichgerade berechnet (siehe Tabelle).

Eichung Thymidin

Peakfläche	Konzentration Thymidin (mM)
516,893	0,20
414,730	0,16
307,575	0,12
208,952	0,08
99,5080	0,04
0,00000	0,00

Lineare Regression ergab: $y = 4,96777 \cdot 10^{-4} + 3,85757 \cdot 10^{-7} \cdot x$
mit x = Peakfläche und y = Konzentration Thymidin; $r = 0,9999$.

2.2 Eichung 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonyl)thymidin

Es wurde eine Verdünnungsreihe mit folgenden drei Konzentrationen erstellt: 0,2 mM, 0,14 mM und 0,08 mM. Die Mittelwerte aus drei Einspritzungen je Konzentration sowie der Nullpunktswert wurden zur Berechnung der Regressionsgerade eingesetzt (siehe Tabelle):

Eichung CNPEOC-T

Peakfläche	Konzentration CNPEOC-T (mM)
617,057	0,20
435,070	0,14
238,624	0,08
0,00000	0,00

Lineare Regression ergab: $y = 9,27999 \cdot 10^{-4} + 3,22516 \cdot 10^{-7} \cdot x$
mit x = Peakfläche und y = Konzentration CNPEOC-T; $r =$
0,9998.

2.3 Ergebnisse

(a) 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonyl)thymidin

Bestrahlung von 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)ethoxycarbonyl)thymidin

Bestrahlungszeit (min)	Peakfläche CNPEOC-T	Konzentration CNPEOC-T (mM)	Relative Menge CNPEOC-T (%)
1,00000	458911	0,1489	74,5
2,00000	253292	0,0826	41,3
3,00000	250989	0,0819	40,9
5,00000	84081,0	0,0281	14,0
15,0000	24181,0	0,0088	4,4
30,0000	0	0	0
60,0000	0	0	0
120,000	0	0	0

Bestrahlungszeit (min)	Peakfläche Thymidin	Konzentration Thymidin (mM)	Relative Menge Thymidin (%)
1,00000	83460,0	0,0327	16,3
2,00000	221149	0,0858	42,9
3,00000	228893	0,0888	44,4
5,00000	330106	0,1278	63,9
15,0000	432514	0,1673	83,7
30,0000	437588	0,1693	84,6
60,0000	442230	0,1711	85,5
120,000	407543	0,1577	78,9

Diese Tabelle zeigt deutlich, daß die Photolyse über einen sehr großen Zeitraum der Kinetik einer ersten Ordnung folgt, was auf einen eindeutigen Abspaltungsmechanismus ohne ausbeutemindernde Nebenreaktionen schließen läßt.

(b) Weitere erfindungsgemäße Verbindungen

Die nach der oben angegebenen Methode erhaltenen und bezüglich Halbwertszeit und Ausbeute (Prozentsatz entschütztes Nucleosid-Derivat, bezogen auf die maximal erreichbare Konzentration) ausgewerteten Ergebnisse einiger weiterer erfindungsgemäßen Derivate und der zwei Vergleichsverbindungen V1 (5'-O-(2-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thymidin) und V2 (5'-O-(2,4-Dinitrobenzyloxycarbonyl)-thymidin) werden in der nachstehenden Tabelle zusammengefaßt:

Verbindung Nr.	$t_{0,5}$ (min)	Ausbeute (% C_{max})
1	2,6	79
2	1,37	92
4	1,71	86
5	1,71	89
6	2,3	70
8	1,68	77
9	7,2	77
10	0,7	89
11	1,46	97
V1	2,5	55
V2	3,3	38

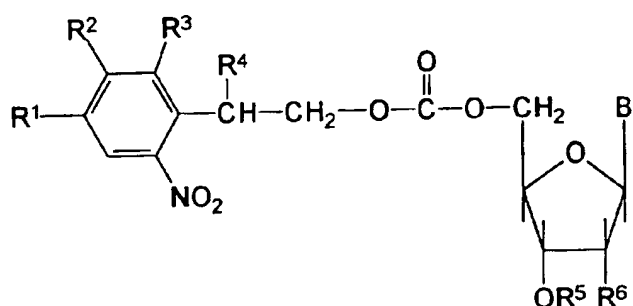
Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, sind die erfindungsgemäßen Nucleosid-Derivate hinsichtlich der photolytischen Abspaltung der 5'-Schutzgruppe in Bezug auf Schnelligkeit und hohe Ausbeuten (vgl. insbesondere Verbindungen 10 und 11) den Schutzgruppen entsprechend dem Stand der Technik (vgl. V1 und V2) deutlich überlegen.

2.4 Anwendungsbeispiel

Die Verbindung 5'-O-(2-(2-Chlor-6-nitrophenyl)-ethoxycarbonyl)thymidin und andere erfindungsgemäße Nucleosid-Derivate wurden nach einer Methodik gemäß S.P.A. Fodor et al. Science 1991, 251, S.767ff zur Darstellung von Oligonucleotiden auf einem DNA-Chip eingesetzt. Es zeigte sich, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen eine unkomplizierte Oligonucleotidsynthese mit sehr hohen Ausbeuten erlaubten, so daß sie in der Praxis für lichtgesteuerte Parallel-Synthesen von Oligonucleotiden geeignet sind.

Patentansprüche

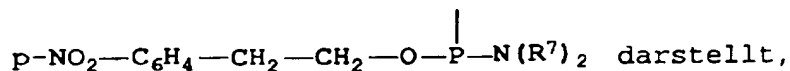
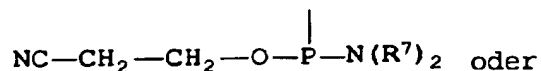
1. Nucleosid-Derivate mit photolabilen Schutzgruppen der allgemeinen Formel (I)



in der

- R^1 = H, NO_2 , CN, OCH_3 , Halogen oder Alkyl oder Alkoxyalkyl mit 1 bis 4 C-Atomen
- R^2 = H, OCH_3
- R^3 = H, F, Cl, Br, NO_2
- R^4 = H, Halogen, OCH_3 oder ein Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen
- R^5 = H oder eine übliche funktionelle Gruppe zur Herstellung von Oligonucleotiden
- R^6 = H, OH, Halogen oder XR^8 , wobei X = O oder S und R^8 eine in der Nucleotidchemie übliche Schutzgruppe darstellt,
- B = Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin, Uracil, 2,6-Diaminopurin-9-yl, Hypoxanthin-9-yl, 5-Methylcytosin-1-yl, 5-Amino-4-imidazolcarbonsäureamid-1-yl oder 5-Amino-4-imidazolcarbonsäureamid-3-yl, wobei im Falle von B = Adenin, Cytosin oder Guanin die primäre Aminofunktion ggf. eine permanente Schutzgruppe aufweist.

2. Nucleosid-Derivate nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß im Falle von $R^4 \neq H$ $R^1 = R^2 = R^3 = H$ ist.
3. Nucleosid-Derivate nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß im Falle von $R^2 = OCH_3$ $R^3 = H$ ist.
4. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R^4 einen Methylrest darstellt.
5. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß R^5 eine Phosphitamidgruppe der Formel:

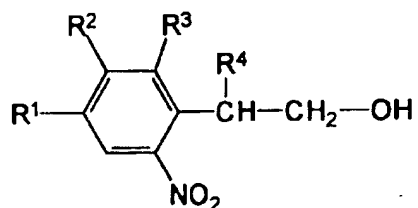


wobei die R^7 -Gruppen gleich oder verschieden sind und lineare oder verzweigte Alkylreste mit 1 bis 4 C-Atomen bedeuten.

6. Nucleosid-Derivate nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß R^7 einen Ethyl- oder Isopropylrest darstellt.
7. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß R^6 eine Gruppe XR^8 ist und R^8 im Fall von $X=O$ eine Alkyl-, Alkenyl-, Acetal- oder Silylether-Schutzgruppe oder im Fall von $X=S$ eine Alkyl-Schutzgruppe darstellt.
8. Nucleosid-Derivate nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß als R^6 ein O-Methyl- oder O-Ethylrest, ein O-Allylrest, ein O-Tetrahydropyranyl-

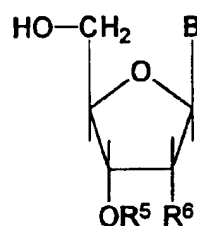
bzw. O-Methoxytetrahydropyranyl-Rest oder ein O-t-Butyldimethylsilyl-Rest eingesetzt wird.

9. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß man im Falle von B = Adenin, Cytosin oder Guanin als permanente Schutzgruppe Phenoxycetyl- oder Dimethylformamidino-Reste einsetzt.
10. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß man im Falle von B = Adenin als permanente Schutzgruppe Benzoyl- oder p-Nitrophenylethoxycarbonyl- (p-NPEOC)-Reste verwendet.
11. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß im Falle von B = Guanin die permanente Schutzgruppe Isobutyroyl- oder p-NPEOC-Reste darstellen.
12. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß man im Falle von B = Cytosin als permanente Schutzgruppen Benzoyl- oder p-NPEOC-Reste einsetzt.
13. Nucleosid-Derivate nach den Ansprüchen 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß als Halogenatom in R^1 oder R^6 ein Fluor-, Chlor- oder Bromatom eingesetzt wird.
14. Verfahren zur Herstellung von Nucleosid-Derivaten nach den Ansprüchen 1 bis 13 in mindestens zwei Stufen, dadurch gekennzeichnet, daß man
 - a) einen Alkohol der allgemeinen Formel (II)



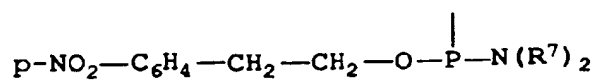
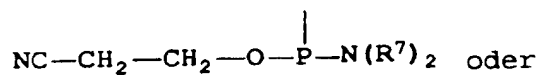
in der R^1 , R^2 , R^3 , R^4 die oben angegebene Bedeutung besitzen, mit einem Phosgen-Derivat umgesetzt und anschließend

- b) den in Stufe a) gebildeten Chlorkohlensäureester mit Nucleosiden der allgemeinen Formel (III)



in der R^5 , R^6 und B die oben angegebene Bedeutung besitzen, reagieren läßt und ggf. anschließend

- c) in der 3'-Stellung der Nucleosid-Derivate mit $R^5 = H$ die Phosphitamid-Gruppe



nach bekannten Methoden einführt.

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß man Stufe a) in einem unpolaren organischen Lösemittel bei Temperaturen zwischen -20 und +25°C durchführt.
16. Verfahren nach den Ansprüchen 14 und 15, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe a) das Phosgenderivat in zwei- bis fünffachem Überschuß bezogen auf die Alkoholkomponente einsetzt.
17. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe a) als unpolarer organisches Lösemittel Toluol oder THF verwendet.
18. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Konzentration der Alkoholkomponente in Stufe a) 0,1 bis 10,0 mol pro 10 ml Solvens beträgt.
19. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß man Stufe b) in einem Lösungsmittelgemisch bestehend aus Dichlormethan und einem polaren organischen Lösemittel ggf. in Gegenwart einer Base bei Temperaturen zwischen -60 und +25°C durchführt.
20. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe b) als polares organisches Lösemittel DMF oder Pyridin heranzieht.
21. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe b) ein Lösungsmittelgemisch bestehend aus Dichlormethan und DMF sowie eine Base ausgewählt aus der Gruppe Pyridin, Triethylamin und Ethyldiisopropylamin einsetzt.

22. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß das Mischungsverhältnis Dichlormethan zu Pyridin bzw. DMF 1:1 bis 3:1 beträgt.
23. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß das Molverhältnis Nucleosid zu Chlorkohlensäureester 1:1 bis 1:2 beträgt.
24. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe b) das in Pyridin oder DMF/Base gelöste Nucleosid vorlegt und eine Lösung des Chlorkohlensäureesters in Dichlormethan bei der jeweiligen Reaktionstemperatur zutropfen läßt.
25. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Konzentration des Nucleosids im Lösemittelgemisch in Stufe b) 0,1 bis 3,0 mmol pro 10 ml Solvens beträgt.
26. Verfahren nach den Ansprüchen 14 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß man die Einführung der Phosphitamid-Gruppe (Stufe c) durch Umsetzung der Nucleosid-Derivate (mit $R^5 = H$) mit den entsprechenden Phosphinen in Gegenwart von 1H-Tetrazol als Aktivator in einem Lösemittelgemisch bestehend aus Dichlormethan und Acetonitril bei Temperaturen zwischen 0 und 25°C vornimmt.
27. Verwendung eines Nucleosid-Derivats der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1 für die lichtgesteuerte Synthese von Oligonucleotiden.
28. Verwendung gemäß Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, daß die lichtgesteuerte Oligonucleotidsynthese auf einem festen Trägermaterial erfolgt.

29. Verwendung gemäß Anspruch 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, daß das Nucleosid-Derivat wie in einem oder mehreren der Ansprüche 2 bis 13 definiert ist.